

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**Mecanismos hidráulicos na tolerância ao alagamento em clones de eucalipto:  
o papel crítico do embolismo na recuperação pós-alagamento**

Pablo Henrique Nunes de Carvalho  
*Doctor Scientiae*

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**PABLO HENRIQUE NUNES DE CARVALHO**

**Mecanismos hidráulicos na tolerância ao alagamento em clones de eucalipto:  
o papel crítico do embolismo na recuperação pós-alagamento**

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

Orientador: Fabio Murilo da Matta

Coorientadores: Samuel C. Vitor Martins  
Amanda Ávila Cardoso

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

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

T

C331m  
2024  
Carvalho, Pablo Henrique Nunes de, 1994-  
Mecanismos hidráulicos na tolerância ao alagamento em clones de eucalipto: o papel crítico do embolismo na recuperação pós-alagamento / Pablo Henrique Nunes de Carvalho. – Viçosa, MG, 2024.

1 tese eletrônica (52 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Fábio Murilo DaMatta.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Vegetal, 2024.

Referências bibliográficas: f. 30-40.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.043>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Eucalipto - Efeito das inundações. 2. Solos - Inundação. I. DaMatta, Fábio Murilo, 1966-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 632.1

**PABLO HENRIQUE NUNES DE CARVALHO**

**Mecanismos hidráulicos na tolerância ao alagamento em clones de eucalipto:  
o papel crítico do embolismo na recuperação pós-alagamento**

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

APROVADA: 18 de dezembro de 2024.

Assentimento:

---

Pablo Henrique Nunes de Carvalho  
Autor

---

Fabio Murilo da Matta  
Orientador

Essa tese foi assinada digitalmente pelo autor em 03/02/2025 às 08:22:06 e pelo orientador em 10/03/2025 às 10:19:01. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **X45S.UJCB.118P** e clique no botão 'Validar documento'.

*Ao meu tio Franklin (in memoriam) e meu  
sobrinho Ruan Miguel (in memoriam).*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por ter me sustentado até aqui e por ter sido meu maior companheiro nos momentos mais difíceis ao longo de toda essa caminhada, além de ter colocado no meu caminho pessoas incríveis que me ajudaram a chegar até aqui.

À minha família, que sempre me apoiou em todas as decisões, por se fazerem presentes, mesmo à distância, e sempre terem me dado a certeza de poder tentar tudo, pois sempre terei um lugar para voltar e recomeçar, caso necessário.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

À empresa Celulose Nipo-Brasileira (CENIBRA S.A.) por ter cedido as mudas dos materiais utilizados nessa pesquisa.

Ao meu orientador, Fábio Murilo DaMatta, pela oportunidade, por toda paciência, apoio e compreensão.

Aos meus coorientadores, Samuel Cordeiro Vitor Martins e Amanda Ávila Cardoso, pela confiança, pelas trocas e pelos desafios propostos.

Ao professor Samuel Vasconcelos Valadares, por todo apoio, atenção e disponibilidade, tanto sua quanto de toda sua equipe de laboratório.

Aos meus amigos de laboratório, Leonardo, Talitha, Moab, Antonio, Raylla e nosso querido técnico Guilherme, por toda ajuda, por todos os dias intensos de análises e todos os incentivos pessoais.

Aos meus colegas dos demais laboratórios, Dora, Genaina, Aristides, Lubia, Thaline, Rita, Santiago e Abraão, obrigado por toda ajuda e trocas valiosas.

Ao meu companheiro, Vinicius, e a todas as pessoas maravilhosas que ele trouxe para perto de mim, Camila, Gyovana, Mauro, Paula, Melissa e Mirelle, agradeço pelas boas risadas e por todo incentivo e confiança.

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram na realização deste trabalho e em meu percurso na UFV.

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

*“O sucesso nunca é de uma pessoa só. O sucesso é a construção de uma série de coisas de muita gente. Então a gente deve ser grato a quem confia na gente.”*

*(Autor Desconhecido)*

## RESUMO

CARVALHO, Pablo Henrique Nunes de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2024. **Mecanismos hidráulicos na tolerância ao alagamento em clones de eucalipto: o papel crítico do embolismo na recuperação pós-alagamento.** Orientador: Fabio Murilo da Matta. Coorientadores: Samuel Cordeiro Vitor Martins e Amanda Ávila Cardoso.

As mudanças climáticas têm afetado os padrões de precipitação e tornando cada vez mais comuns eventos de alagamento em áreas antes não alagáveis. Apesar disso, os conhecimentos sobre os aspectos de tolerância de árvores ao excesso de água no solo ainda são limitados. Este estudo buscou compreender mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na tolerância diferencial de clones de eucalipto ao alagamento e avaliar como a hidráulica da planta é afetada durante e após esse estresse. Foram avaliados dois clones, sensível e tolerante, submetidos a sete dias de alagamento e 30 dias de recuperação. O excesso de água reduziu significativamente a magnitude das trocas gasosas, comprometendo a fotossíntese por fatores fotoquímicos, bioquímicos e difusionais. As plantas sensíveis ao alagamento sofreram disfunção hidráulica severa, com reduções no potencial hídrico e maior embolismo, dificultando a recuperação do transporte de água. Após o alagamento, o clone tolerante recuperou sua performance fotossintética e a capacidade de hidratação, enquanto o sensível não. A tolerância diferencial ao alagamento parece estar mais associada à fase de reoxigenação pós-alagamento. O estudo destacou que as limitações bioquímicas, hidráulicas e difusionais são cruciais para a resiliência ao alagamento e à recuperação pós-estresse. O clone tolerante demonstrou maior resiliência fotossintética e recuperação hídrica pós-alagamento, sublinhando a importância dos mecanismos de adaptação fotossintética e da capacidade hidráulica. A eficácia na manutenção da hidratação e no controle de embolismos mostrou-se essencial para a tolerância ao alagamento. Estes resultados podem ser aplicados em estratégias de manejo e melhoramento genético, apontando para a importância de investigar mais detalhadamente os mecanismos antioxidantes e diferentes intensidades de alagamento para melhorar a adaptação ao estresse hídrico.

Palavras-chave: fotossíntese, hidráulica, hipóxia, reoxigenação, xilema

## ABSTRACT

CARVALHO, Pablo Henrique Nunes de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2024. Hydraulic Mechanisms in Flood Tolerance of Eucalyptus Clones: The Critical Role of Embolism in Post-Flood Recovery. Adviser: Fabio Murilo da Matta. Co-advisers: Samuel Cordeiro Vitor Martins and Amanda Ávila Cardoso.

Climate change has affected precipitation patterns, making flooding events increasingly common in previously non-flooded areas. Despite this, knowledge about the tolerance of trees to excess soil water remains elusive. This study aimed to understand the physiological and biochemical mechanisms involved in the differential flood tolerance of eucalyptus clones and to assess how the plant's hydraulics are affected during and after this stress. Two clones, one sensitive and one tolerant, were subjected to seven days of flooding followed by 30 days of recovery. The excess water significantly reduced the magnitude of gas exchanges, impairing photosynthesis due to photochemical, biochemical, and diffusional factors. The sensitive plants experienced severe hydraulic dysfunctions, with reductions in water potential and increased embolism, hindering water transport recovery. After flooding, the tolerant clone recovered its photosynthetic performance and hydration capacity, while the sensitive one did not. The differential tolerance seems to be more associated with the post-flood reoxygenation phase. The study highlighted that biochemical, hydraulic, and diffusional limitations are crucial for resilience to flooding and post-stress recovery. The tolerant clone demonstrated superior photosynthetic resilience and post-flood hydraulic recovery, underscoring the importance of photosynthetic adaptation mechanisms and hydraulic capacity. Maintaining hydration and controlling embolism proved essential for flood tolerance. These results can be applied in management and genetic improvement strategies, indicating the importance of further investigating antioxidant mechanisms and different flooding intensities to enhance adaptation to water stress.

Keywords: hydraulics, hypoxia, photosynthesis, reoxygenation, xylem.

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>10</b>
<b>2. Material e Métodos.....</b>	<b>13</b>
2.1. <i>Material vegetal, desenho experimental, e imposição do alagamento</i> .....	13
2.2. <i>Medidas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a</i> .....	14
2.3. <i>Potencial hídrico foliar</i> .....	15
2.4. <i>Curva de vulnerabilidade óptica foliar</i> .....	15
2.5. <i>Curva de perda percentual da capacidade de reidratação</i> .....	16
2.6. <i>Curva pressão-volume</i> .....	16
2.7. <i>Determinação de metabólitos e clorofilas</i> .....	17
2.8. <i>Determinação do teor de antocianinas</i> .....	17
2.9. <i>Determinação da atividade de enzimas do sistema antioxidante</i> .....	17
2.10. <i>Extravasamento de eletrólitos (EE)</i> .....	18
2.11. <i>Análises estatísticas</i> .....	19
<b>3. Resultados .....</b>	<b>19</b>
3.1. <i>Alagamento no solo</i> .....	19
3.2. <i>Reoxigenação pós-alagamento</i> .....	21
<b>4. Discussão .....</b>	<b>22</b>
4.1. <i>Impactos do alagamento na performance fotossintética</i> .....	23
4.2. <i>Impactos do alagamento na eficiência fotoquímica e no estresse oxidativo</i> .....	24
4.3. <i>Impactos do alagamento na taxa respiratória e metabolismo</i> .....	25
4.4. <i>Impactos do alagamento nas relações hidráulicas</i> .....	25
4.5. <i>Reoxigenação pós-alagamento</i> .....	28
<b>5. Conclusão .....</b>	<b>30</b>
<b>6. Referências .....</b>	<b>30</b>
<b>7. Figuras e Tabelas.....</b>	<b>41</b>
<b>Material Suplementar .....</b>	<b>51</b>

## 1. Introdução

O atual panorama climático global vem causando alterações nos regimes hídricos, aumentos de temperatura e concentrações atmosféricas de CO<sub>2</sub>, fatores que, em conjunto, têm afetado os ecossistemas florestais (Bailey-Serres et al., 2012; Kreuzwieser & Rennenberg, 2014; Wingfield et al., 2015; Chappelka & Grulke, 2016). Esses fatores influenciam os eventos de precipitação, ocasionando secas em algumas regiões e chuvas excessivas em outras, tornando mais comuns enchentes e alagamentos que podem levar à submersão parcial ou total das plantas (Sasidharan et al., 2017; Fukao et al., 2019). Com efeito, em decorrência das mudanças climáticas, episódios de alagamentos têm se tornado cada vez mais frequentes (Bailey-Serres et al., 2012), prejudicando especialmente as árvores não adaptadas a esse estresse.

Com mais de 16% das terras cultivadas em todo o mundo afetadas pelo alagamento (Ploschuk et al., 2018), e uma área superior a 17 milhões de km<sup>2</sup> sujeita a inundações (Voesenek & Sasidharan, 2013), torna-se indispensável compreender os mecanismos pelos quais as plantas respondem a esse estresse ambiental, a fim de desenvolverem-se estratégias de manejo eficazes e práticas que possam mitigar os impactos negativos das mudanças climáticas nos ecossistemas florestais. Isso inclui a identificação de genótipos mais tolerantes ao alagamento, que possam ser utilizados em programas de melhoramento para aumentar a resiliência das florestas e a sua sustentabilidade em um cenário de clima em transformação (Matallana-Ramirez et al., 2021).

O excesso de água no solo cria um estresse complexo e multidimensional que afeta negativamente o desenvolvimento das plantas e a sua produtividade (Bailey-Serres & Colmer, 2014; Sasidharan et al., 2017; Fukao et al., 2019). Em condições de alagamento, a água ocupa os poros de ar do solo, saturando-os e restringindo a disponibilidade de oxigênio para as raízes (i.e., hipóxia/anoxia) (Olmo-Vega et al., 2017). Como consequência, a taxa de difusão dos gases é drasticamente reduzida, limitando a absorção de oxigênio e acionando o metabolismo respiratório fermentativo, que é altamente ineficiente (Geigenberger, 2003; Bailey-Serres & Colmer 2014; Sasidharan & Voesenek, 2015; Olmo-Vega et al., 2017). Associado ao estresse causado nas raízes, ocorrem alterações fisiológicas na parte aérea das plantas, principalmente com relação ao rápido fechamento estomático e às reduções das taxas de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), taxas transpiratórias ( $E$ ), além de reduções da eficiência fotoquímica do fotossistema II ( $F_v/F_m$ ) e dos potenciais hídricos ( $\Psi_w$ ) (Sasidharan et al., 2017; Fukao et al., 2019). Essas alterações levam a um comprometimento global da fotossíntese, gerando crises energéticas e hídricas que podem, em última instância, culminar em fome de carbono, impactando o

crescimento e desenvolvimento das plantas (Bailey-Serres et al., 2012; Kreuzwieser & Rennenberg, 2014; Tamang & Fukao, 2015). As reduções na magnitude da transpiração reduzem a absorção e o transporte de água e nutrientes do solo. Acredita-se que a redução da condutância estomática ( $g_s$ ) esteja ligada à redução da condutividade hidráulica da planta ( $K_{planta}$ ), juntamente com uma menor permeabilidade de membranas mediada por aquaporinas, o que pode limitar a absorção de água e nutrientes, resultando em um déficit hídrico durante e após o alagamento (Kreuzwieser & Rennenberg, 2014; Menezes-Silva et al., 2019; Toral-Juárez et al., 2021). Reduções no potencial hídrico do xilema podem resultar na entrada de ar nas células condutoras (i.e., cavitação), levando à expansão de bolhas de ar e bloqueio do transporte de água no xilema (i.e., embolismo). Esse processo foi recentemente demonstrado em uma planta herbácea por Haverroth et al. (2024), mas ainda não há evidências diretas desse fenômeno ocorrendo em árvores submetidas ao alagamento.

Além dos efeitos durante o alagamento *per se*, a reoxigenação pós-alagamento traz consigo outros estresses (Tamang & Fukao, 2015). A repentina reexposição ao oxigênio atmosférico pode resultar em dano oxidativo significativo e quedas adicionais na condutividade hidráulica das plantas, o que pode causar dessecação e morte das folhas mesmo com disponibilidade de água no solo (Fukao et al., 2011). A reoxigenação pós-alagamento desencadeia o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (Da-Silva & do Amarante, 2020), o que pode levar a danos celulares e à queda na condutividade hidráulica (Haverroth et al., 2024). Portanto, a sobrevivência das plantas ao alagamento depende, igualmente, de sua capacidade de limitar ou suportar as alterações fisiológicas e hidráulicas que ocorrem durante e após o estresse de alagamento (Bailey-Serres et al., 2012).

De modo a amenizar os efeitos da hipóxia, as plantas podem ativar uma série de mecanismos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos. Algumas espécies adaptadas a ambientes sujeitos ao alagamento desenvolvem raízes adventícias e aerênquima, modificações que permitem a entrada do oxigênio atmosférico pelos poros permeáveis a gases no caule próximos à origem das raízes adventícias e pelas próprias raízes, que crescem na superfície da água em contato com a atmosfera (Olmo-Vega et al., 2017; Yamauchi et al., 2018; Fukao et al., 2019). Espécies que não apresentam essas adaptações, por seu turno, podem lançar mão de processos metabólicos para tolerar o estresse, mantendo o armazenamento de carboidratos e a produção de energia para respiração anaeróbica, ativam seu sistema antioxidante para reduzir os níveis de EROs, além de vias de sinalização mediadas pelo ácido abscísico (ABA) e etileno

(Bailey-Serres & Voeselek, 2008; Bailey-Serres & Colmer, 2014; Olmo-Vega et al., 2017; Medina et al., 2019).

No tocante às florestas plantadas, sua contribuição à economia global é significativa. Somente no Brasil, no ano de 2023, a área total de florestas plantadas atingiu 10,2 milhões de hectares, com larga predominância de eucaliptais (76%) (IBÁ, 2024). O sucesso da eucaliptocultura decorre da grande variedade de espécies e híbridos com distintas características que melhor se adaptam às diferentes regiões do país (Gonçalves et al., 2013). Contudo, perdas na produção têm ocorrido devido a períodos de chuvas mais prolongadas e problemas temporários de drenagem do solo (Leite et al., 2014). Apesar da enorme importância econômica, ecológica e social dos ecossistemas florestais, o conhecimento sobre aspectos de tolerância ao alagamento em árvores é muito menos compreendido do que em espécies herbáceas (Kreuzwieser & Rennenberg, 2014). Em todo o caso, sabe-se que as plantas conseguem ajustar seu metabolismo e desenvolvimento ao alagamento do solo, mas ainda há dúvidas sobre como esses ajustes diferem entre genótipos tolerantes e sensíveis (Harguindeguy et al., 2017; Medina et al., 2019; Haverroth et al., 2024). No caso dos eucaliptos, a variação na tolerância ao excesso de água entre genótipos estaria relacionada a mecanismos bioquímicos de proteção (*e.g.* sistemas antioxidantes) mais eficientes e à maior resiliência hidráulica? Os danos na raiz causados pelo alagamento poderiam resultar em um desacoplamento planta-solo, gerando, portanto, quedas nos potenciais hídricos na parte aérea e embolismo nas folhas e caules? E quanto à recuperação pós-alagamento, o bloqueio do transporte de água no xilema poderia limitar a recuperação do potencial hídrico, reduzindo a resiliência de genótipos mais sensíveis ao alagamento?

Embora alguns estudos com diferentes espécies de plantas sob alagamento sugiram que o desacoplamento planta-solo possa resultar em embolismo no xilema de folhas e caules, afetando a continuidade da coluna de água e dificultando a recuperação das plantas após o estresse (Mozo et al., 2021; Haverroth et al., 2024), ainda há poucas informações sobre como esse processo ocorre em eucaliptos. Registre-se que há uma variação interespecífica entre clones de eucalipto quanto à tolerância ao excesso de água no solo e à deficiência de oxigênio (Cusati et al., 2013; Harguindeguy et al., 2017; Medina et al., 2019). Entretanto, pouco se sabe sobre as alterações fisiológicas e/ou bioquímicas associadas a características hidráulicas que poderiam explicar a tolerância diferencial de genótipos dentro da mesma espécie ao estresse por alagamento (Curi, 2000; Kogawara et al., 2006; Harguindeguy et al., 2017; Medina et al., 2019; El-Yazel et al., 2020). Neste trabalho, buscou-se compreender mecanismos fisiológicos

e bioquímicos envolvidos na tolerância diferencial de clones de eucalipto ao alagamento e avaliar como a hidráulica da planta é afetada durante e após o estresse. Além disso, investigou-se se um possível desacoplamento planta-solo produziria quedas nos potenciais hídricos na parte aérea e embolismo nas folhas, o que dificultaria a recuperação de plantas de eucalipto após o alagamento.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. *Material vegetal, desenho experimental, e imposição do alagamento*

Mudas de dois clones de *Eucalyptus* spp., com tolerância diferencial ao alagamento, com base em observações de campo, foram produzidas por estaquia, e gentilmente cedidas pela empresa Celulose Nipo-Brasileira (CENIBRA S.A.): CNB004 (CS, clone sensível ao alagamento) e CNB016 (CT, clone tolerante ao alagamento). Essas mudas, com *c.* 90 dias de idade, foram transferidas para vasos de *c.* 14 L contendo terra, areia e substrato (3:2:1, v:v:v) e mantidas em casa de vegetação na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, (20°45' S, 42°54' W, 650 m de altitude, Minas Gerais, Brasil), por um período de 150 dias, sob irrigação diária até capacidade de campo e tratos culturais recomendados para a cultura. As condições ambientais durante esse período foram radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de 1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (medida ao meio-dia), temperatura de  $26 \pm 4^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $61 \pm 13\%$ .

Para a montagem do experimento, plantas dos dois clones foram submetidas a dois regimes de irrigação (*i.e.* alagado e controle (capacidade de campo)), em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, totalizando quatro tratamentos, com seis plantas ( $n = 6$ ) por tratamento. Para a imposição do alagamento, os vasos (com orifícios de drenagem no fundo) com as plantas foram colocados dentro de vasos maiores (*c.* 21 L) e completados com água até a formação de uma lâmina d'água de *c.* 5 cm acima do nível do solo. A água dos vasos perdida por evapotranspiração foi repostada diariamente de modo a manter a lâmina d'água sempre *c.* 5 cm acima do solo. Todas os vasos tiveram sua superfície cobertas com isopor envolvido em papel alumínio para evitar a proliferação de algas e reoxigenação do solo. A concentração de oxigênio dissolvido no substrato das plantas sob alagamento foi medida diariamente com um oxímetro portátil (Alfakit AT-160, Florianópolis, SC, Brasil).

O alagamento foi imposto por um período de sete dias contínuos, acompanhando-se as trocas gasosas em dias alternados, até observar-se uma redução de *c.* 90% de *A* das plantas do

clone sensível alagado em relação aos valores das respectivas plantas-controle. Nesse momento, as plantas tiveram o alagamento suspenso e deu-se início às avaliações pós-alagamento, por um período de 30 dias.

## 2.2. *Medidas de trocas gasosas e fluorescência da clorofila a*

Os parâmetros de trocas gasosas foram avaliados em dias alternados, ao longo de 38 dias de experimento. São apresentados os dados dos dias 1, 3, 5 e 7 de alagamento e dos dias 2, 4, 6, 8, 11, 16, 27 e 31 após a suspensão do alagamento. As medições foram realizadas entre 8:00 e 12:00 h sob condições ambiente, utilizando um analisador portátil de trocas gasosas em sistema aberto (LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, EUA) equipado com uma câmara de fluorescência (LI-6400-40, LI-COR Inc.). Dentre os parâmetros de trocas gasosas, foram determinadas: taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ), condutância estomática ( $g_s$ ), taxa de transpiração ( $E$ ) e concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ). Essas medidas foram tomadas em folhas sob RFA artificial de 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  em nível das folhas, e 400  $\mu\text{mol de CO}_2 \text{mol}^{-1}$ . Todas as medições foram realizadas em condições ambientes de temperatura (*c.* 26°C) e déficit de pressão de vapor (*c.* 1,36 kPa).

Os parâmetros de fluorescência da clorofila (Chl)  $a$  e respiração noturna ( $R_n$ ) foram avaliados no último dia de cada fase (alagamento; dia 7 e reoxigenação; dia 30), utilizando o analisador portátil de trocas gasosas supracitado. Para as medições de  $R_n$ , as folhas foram previamente aclimatadas por 30 min no escuro.  $R_n$  foi então usado para estimar a respiração diurna ( $R_d$ ) seguindo Lloyd et al. (1995), como  $R_d = (0,5 - 0,05 \ln(\text{RFA}))R_n$ . Para a determinação de fluorescência da Chl  $a$ , as folhas também foram previamente aclimatadas por 30 min no escuro. Inicialmente as folhas foram expostas a um fraco pulso de luz vermelho-distante (0,03  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), obtendo-se a fluorescência inicial ( $F_0$ ). Em seguida, foi aplicado um pulso de luz saturante, com irradiância de 6000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e duração de 0,8 s, para a estimativa da fluorescência máxima emitida ( $F_m$ ) e posterior cálculo da eficiência fotoquímica máxima do FSII ( $F_v/F_m$ ); por seu turno, o rendimento de fluorescência em estado estacionário ( $F_s$ ) foi medido aplicando-se um pulso de luz branca saturante (8000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; 0,8 s) para obter-se a fluorescência máxima do tecido foliar adaptado à luz ( $F_m'$ ). A luz actínica foi desligada e uma iluminação vermelho-distante aplicada (2  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para medir a fluorescência inicial do tecido foliar adaptado à luz ( $F_0'$ ). A taxa aparente de transporte de elétrons (TTE) foi calculada como  $\text{TTE} = \Phi_{\text{FSII}} \times \beta \times \alpha \times \text{RFA}$ , em que  $\alpha$  é absorvância foliar e  $\beta$  reflete o particionamento de elétrons absorvidos entre FSII e FSI.

Para estimar a velocidade máxima de carboxilação ( $V_{cmax}$ ) pelo método do único ponto, foram utilizados os dados de  $A$ ,  $C_i$  e  $R_d$ , obtidos como descrito anteriormente. Em seguida, os cálculos do  $V_{cmax}$  foram feitos de acordo com De Kauwe et al. (2015).

### 2.3. *Potencial hídrico foliar*

O  $\Psi_w$  foi avaliado nos mesmos dias de avaliação das trocas gasosas, sendo realizadas na antemanhã (04:30 – 05:30 h) ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio-dia (entre 11:00 e 13:00) ( $\Psi_{md}$ ). Para isso, folhas foram coletadas e armazenadas em saco “ziplock” contendo papel toalha umedecido em seu interior, deixadas para equilibrar por 15 min, e as medições foram então realizadas utilizando-se uma câmara de pressão tipo Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, Albany, NY, USA).

### 2.4. *Curva de vulnerabilidade óptica foliar*

Para a construção das curvas de vulnerabilidade à cavitação, a propagação de embolismos foi avaliada pelo método da vulnerabilidade óptica (Brodribb et al., 2016). Plantas bem irrigadas e não expostas previamente ao alagamento foram coletadas no início da manhã e suas raízes foram lavadas até a retirada completa do solo aderido a elas e, em seguida, colocadas em um recipiente c. 20 L com água, onde ficaram por 2 h para que estivessem completamente hidratadas no início das avaliações. Uma folha completamente expandida do terceiro ou quarto par (a partir do ápice) de um ramo localizado no terço médio da planta foi acoplada a um scanner (Epson perfection V800; Epson; Suwa, Japão) e digitalizada com lado adaxial voltado para a superfície, fixada com fita transparente e iluminada por cima de modo a criar uma imagem da luz transmitida, permitindo que os embolismos fossem registrados durante a desidratação da planta, a cada 3 min. A obtenção das imagens foi finalizada 12 h após a observação dos últimos eventos de embolismo. Para identificarem-se e quantificarem-se os embolismos, foi realizada análise de imagens usando o método de subtração no software ImageJ (National Institute of Health, New York, NY, USA) para destacar mudanças entre imagens sucessivas na sequência de imagens produzidas durante processo de secagem da planta. Nessa série de imagens subtraídas, os pixels pretos representam qualquer evento óptico: cavitação, instabilidade das condições de luz e movimentos da folha ou de suas estruturas. Para separar o sinal (evento de cavitação) do ruído, as imagens diferenciais foram processadas e, posteriormente, examinadas para remoção manual do ruído. O grau de embolia foi calculado como o número cumulativo de

pixels embolizados normalizados pelo número total de pixels embolizados ao longo da desidratação.

O  $\Psi_w$  foi medido em folhas de outros ramos das plantas em regiões semelhantes às da folha acoplada ao scanner, a cada 6 h, com o auxílio da bomba de pressão supramencionada. Posteriormente, foram obtidas equações lineares com os valores de  $\Psi_w$  medidos e o tempo decorrido (em horas) de cada curva, para estimarem-se os  $\Psi_w$  associados a todos os eventos de área cumulativa de embolismo. Para visualizar a dinâmica da propagação de embolismos pela folha, foi plotado o  $\Psi_w$  versus a porcentagem de área cumulativa de embolismo, sendo uma curva de vulnerabilidade óptica produzida para cada planta. Os potenciais hídricos a 12, 50 e 88% da cavitação máxima da folha ( $P_{12}$ ,  $P_{50}$  e  $P_{88}$ ) foram calculados com base na curva de vulnerabilidade óptica.

#### 2.5. *Curva de perda percentual da capacidade de reidratação*

Folhas completamente expandidas do terço médio da copa também foram coletadas de plantas bem irrigadas e não expostas previamente ao alagamento para a caracterização da capacidade de reidratação dos genótipos. Foram coletadas 10 folhas por planta, armazenadas em sacos “ziplock”, transportadas ao laboratório e colocadas em dessecadores com seus pecíolos imersos em água, por 12 h, para posterior pesagem e digitalização. A medição de área foliar foi feita com o auxílio do software ImageProPlus, com as imagens digitalizadas. Em seguida, as folhas foram desidratadas em bancada (sob luz ambiente), sendo pesadas frequentemente para a estimativa do teor relativo de água (TRA) (dados de área foliar específica coletados previamente forneceram uma estimativa inicial da matéria seca). As folhas foram removidas da bancada a cada variação de 10% do seu TRA original e novamente colocadas em um dessecador com o pecíolo imerso em água por 12 h. Em seguida, foram tomados seu peso túrgido e o peso seco (após secagem completa por 72 h a 70°C). A porcentagem de perda da capacidade de reidratação foliar (PPCR, %) e o TRA (%) foram calculados conforme descrito por Trueba et al. (2019).

#### 2.6. *Curva pressão-volume*

Por fim, os dois genótipos foram caracterizados quanto às suas relações hídricas por meio de curvas de pressão-volume (Tyree & Hammel, 1972). Essas curvas foram construídas usando-se folhas completamente expandidas coletadas no terço médio de cinco plantas bem irrigadas e não previamente submetidas ao alagamento. Para isso, folhas foram cortadas em

água e reidratadas durante a noite. As folhas foram então desidratadas lentamente, enquanto seu peso e o  $\Psi_w$  foram avaliados regularmente com auxílio da bomba de Scholander supracitada, até seu completo colapso e dessecação. As folhas foram então escaneadas e suas áreas estimadas com auxílio do software Image Pro Plus e, finalmente, colocadas em uma estufa a *c.* 70°C até a obtenção de massa constante. O peso seco da folha foi utilizado para calcular o TRA, que foi plotado contra  $1/\Psi_w$ . A partir de cada curva, foram estimados o  $\Psi_w$  no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{PPT}$ ), potencial osmótico em turgescência plena ( $\Psi_{100}$ ), teor relativo de água no ponto de perda de turgescência ( $TRA_{PPT}$ ; %) e módulo global de elasticidade ( $\epsilon$ ), de acordo com Bartlett et al. (2012). A capacitância foliar foi calculada a partir da variação no volume por variação em  $\Psi_w$  sob turgescência plena ( $C_{TP}$ ) e abaixo do ponto de perda de turgescência ( $C_{PPT}$ ).

### 2.7. *Determinação de metabólitos e clorofilas*

Para determinação dos metabólitos foliares e teores de clorofila, folhas foram coletadas aos 7 dias de alagamento. Todo o material vegetal coletado foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e, em seguida, armazenado a -80°C, até o momento de análise. As amostras foram liofilizadas a -48°C e maceradas em um disruptor celular com auxílio de esferas de metal de 3,2 mm (Mini-Bead Beaker-96, Bio Spec Products, Bartlesville, OK, EUA). Elas foram então submetidas à extração metanólica a quente, segundo Lisec et al. (2006), exceto pela adição do padrão ribitol. A determinação de clorofilas *a* e *b* foi realizada como descrito por Wellburn (1994). Os conteúdos de proteínas solúveis totais e de aminoácidos totais foram determinados conforme descrito por Bradford (1976) e Yemm & Ockling (1955), respectivamente. Os teores de amido e açúcares (glicose, frutose e sacarose) foram determinados segundo Fernie et al. (2001). O conteúdo de prolina foi analisado conforme Carillo & Gibon (2011).

### 2.8. *Determinação do teor de antocianinas*

Amostras liofilizadas foram submetidas à extração com metanol acidificado (1% HCl, p/v) e a absorvância dos extratos foi medida em 530 e 657 nm em leitor de microplaca (Neff e Chory, 1998). A absorvância foi corrigida e, então, usada para calcular o teor de antocianinas, expresso em miligramas de equivalente de cianidina-3-glicosídeo por grama de peso da amostra (Rabino e Macielli, 1986; Tashtoush et al., 2016).

### 2.9. *Determinação da atividade de enzimas do sistema antioxidante*

Para a determinação da atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.11), catalase (CAT, EC 1.11.1.6), peroxidases (POX, EC 1.11.1.7) e ascorbato peroxidase (APX, EC 1.11.1.11), 10 mg de amostras foliares liofilizadas foram extraídos por homogeneização de 1 mL do meio de extração (tampão de fosfato de potássio 0,1 M e pH 6,8; contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto et al., 1999).). A mistura foi centrifugada a 12.000 g durante 15 min, a 4 °C, e o sobrenadante foi utilizado como extrato enzimático.

A atividade da SOD foi determinada a 25 °C, em câmara de reação sob iluminação de lâmpadas de 15 W, durante por 5 min e medida a 560 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT e os resultados foram expressos em  $U \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína (Beauchamp e Fridovich, 1971). Para CAT, a atividade foi determinada medindo-se o decréscimo na absorbância, no primeiro minuto de reação, a 240 nm, a 30 °C, utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Anderson et al., 1995) e os resultados expressos em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína. Para a atividade da POX, foi medido o incremento da absorbância durante o primeiro minuto de reação, a 420 nm, a 25 °C, sendo a atividade calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Chance e Maehley, 1955) e os resultados expressos em  $\mu\text{mol de purpurogalina min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína. A atividade da APX foi medida pelo decréscimo na absorbância no primeiro minuto de reação, a 290 nm, a 25 °C, utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Nakano e Asada, 1981; Murshed et al., 2008) e os resultados expressos em  $\mu\text{mol de ascorbato min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$  proteína.

#### 2.10. *Extravasamento de eletrólitos (EE)*

Para determinação de extravasamento de eletrólitos, foram retirados 12 discos de 0,8 cm de diâmetro, lavados e acondicionados em frascos pesa-filtro contendo 20 mL de água deionizada. Após fechados, os frascos foram acondicionados à temperatura de 25°C, por 12 h, sendo, em seguida, aferida a condutividade inicial do meio ( $X_i$ ) usando condutivímetro de bancada (Lutron CD-4301, Lutron Electronic Enterprise Co., Taipei, Taiwan). Então, os frascos foram submetidos a 90°C, por 2 h, em estufa de secagem e, após resfriamento, foi medida a condutividade final ( $X_f$ ). O valor de EE foi expresso como a porcentagem de condutividade em relação à condutividade total após o tratamento por 2 h a 90°C:  $[(X_i/X_f) \times 100]$ , seguindo metodologia descrita em Campos & Pham Thi (1997).

### 2.11. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (Levene). Com a confirmação do atendimento aos pressupostos da análise de variância, as médias dos tratamentos foram comparadas utilizando-se o teste t pareado de Student ( $p \leq 0.05$ ). Nos casos em que os dados não atenderam àqueles pressupostos, as médias foram comparadas por meio do teste não paramétrico de Wilcoxon. As análises estatísticas foram conduzidas no software RStudio (v.4.3.2; Posit Team, 2023), e os gráficos foram gerados no GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão.

## 3. Resultados

### 3.1. Alagamento no solo

As primeiras 24 horas de alagamento foram suficientes para reduzir  $A$  em 64% em CS e 55% em CT, em relação aos valores de seus respectivos controles (Figura 1A). Essa redução foi progressiva ao longo dos sete dias de alagamento, com uma menor redução em  $A$  para o CT do que para o CS, na maioria das avaliações. Comportamento essencialmente semelhante foi observado nos valores de  $g_s$  (Figura 1B) e  $E$  (Figura 1C). Por outro lado, durante o alagamento, os valores de  $C_i$  (Figura 1D) e TTE (Figura 1E) foram maiores nas plantas alagadas em comparação com os de suas contrapartes-controle.

O estresse resultou em uma redução de  $F_v/F_m$  (Figura 2A) nas plantas alagadas, em paralelo a um aumento de 6% nos valores de  $F_o$  (Figura 2B) apenas nas plantas CS alagadas em comparação com os de suas contrapartes-controle, sem alterações nas plantas CT. O alagamento acarretou reduções significativas em  $V_{cmax}$  (Figura 2C) em comparação com o observado nas plantas-controle (69% em CS e 93% em CT), embora as plantas CS alagadas tenham apresentado valores de  $V_{cmax}$  superiores aos das plantas CT alagadas.  $R_d$  (Figura 2D) foi reduzida (30%) nas plantas CS durante o alagamento, enquanto nas plantas CT esses valores não se alteraram significativamente em relação aos das plantas-controle.

O  $\Psi_{am}$  das plantas CS sob alagamento reduziu-se progressivamente a partir do primeiro dia de estresse (Figura 3A), enquanto nas plantas CT os valores de  $\Psi_{am}$  somente se reduziram significativamente no sétimo dia do alagamento. Resultados similares foram observados com  $\Psi_{md}$  (Figura 3B). Ao final da fase de alagamento, foram medidos  $\Psi_{am}$  e  $\Psi_{md}$  em folhas do terço

inferior, médio e superior das plantas (Tabela 1); no geral, os valores desses parâmetros foram mais negativos nas plantas CS alagadas independentemente da posição da folha (exceto no terço superior, onde foram essencialmente similares), tanto em comparação com os valores das plantas CT alagadas quanto com os das respectivas plantas-controle CS. De modo geral, os valores de  $MSH_{50}$  e  $MSH_{88}$  nos três terços avaliados (Tabela 2) foram significativamente menores nas plantas alagadas em comparação aos de suas contrapartes-controle. As folhas das plantas CS atingiram, em média, um  $\Psi_w$  mínimo de -3,46 MPa, enquanto as plantas CT apresentaram -2,76 MPa. Em consequência, a  $MSH_{50}$  sofreu uma redução média foi de 61% em CS e 35% em CT, enquanto para  $MSH_{88}$ , a redução média foi de 51% em CS e 33% em CT.

A Figura 4 apresenta uma série de imagens ilustrando a resposta diferencial dos dois clones após sete dias de alagamento e 30 dias de reoxigenação. Na planta CS (Figura 4B), nota-se a presença de seca nas folhas, como detalhado na imagem de uma folha do terço médio (Figura 4C), indicando sinais significativos de estresse. Em contraste, as folhas das plantas CT (Figura 4F) não apresentam os mesmos sinais de estresse, indicando uma maior tolerância ao alagamento.

Todas as curvas de área cumulativa de embolismo (Figura S1) apresentaram comportamento sigmoide, com eventos de cavitação em folhas visualizados pelo método óptico. Embora sem significância estatística, CT apresentou médias de potenciais hídricos mais negativos para 12%, 50% e 88% de área cumulativa de embolismo (Tabela 3). Os clones diferiram significativamente no  $PPCR_{50}$  e  $PPCR_{88}$  (Tabela 3, Figura S2), com as plantas CT apresentando menor teor relativo de água que o das CS. A Tabela 3 mostra, ainda, que  $\Psi_{100}$  e  $\Psi_{PPT}$  foram 13% e 14% mais negativos, respectivamente, nas plantas CT em comparação com os valores de CS. O valor de  $C_{PPT}^*$  foi duas vezes maior nas plantas CT em comparação com os das CS.

A concentração de clorofila *a* (Figura 5A) foi menor nas plantas CT alagadas em relação à das plantas CS alagadas, mas não foram observadas diferenças na concentração de clorofila *b* (Figura 5B). O alagamento provocou um aumento na concentração de carotenoides das plantas CS alagadas em comparação às suas contrapartes-controle (Figura 5C). A concentração de antocianinas (Figura 5D) foi maior nas plantas CT alagadas em comparação com a das plantas CS alagadas. O alagamento também levou a um aumento na concentração de prolina (Figura 5E) nas plantas CS, enquanto as plantas CT tiveram aumentos na concentração de aminoácidos (Figura 5F), tanto em comparação com suas contrapartes-controle quanto com as

plantas CS alagadas. Por fim, a concentração de proteínas (Figura 5G) foi menor nas plantas CT alagadas em relação à das plantas CS alagadas.

De maneira geral, o alagamento não alterou significativamente as concentrações de açúcares, *viz.* glicose (Figura 6A) frutose (Figura 6B), sacarose (Figura 6C) e amido (Figura 6D). A única exceção foi a frutose, cuja concentração foi menor nas plantas CT alagadas em comparação com suas contrapartes-controle. O alagamento resultou em uma redução na atividade da SOD (Figura 7A) nas plantas alagadas, enquanto não foram observadas alterações nas atividades da CAT (Figura 7B) e APX (Figura 7C). Por outro lado, a atividade da POX (Figura 7D) foi significativamente reduzida nas plantas CT alagadas em comparação com a das plantas-controle e CS alagadas. Além disso, o alagamento provocou um aumento significativo na porcentagem de EE (Figura 7E) nas plantas alagadas, especialmente nas plantas CT alagadas.

### 3.2. *Reoxigenação pós-alagamento*

Na fase inicial de recuperação, as plantas alagadas continuaram com valores baixos de  $A$  (Figura 1A),  $g_s$  (Figura 1B) e  $E$  (Figura 1C), porém, CT conseguiu recuperar suas taxas de trocas gasosas a partir do 16º dia, e, registre-se, com valores de  $g_s$  e  $E$  superiores aos das plantas-controle ao final do experimento. Os valores de  $C_i$  (Figura 1D) se mantiveram maiores nas plantas alagadas durante essa fase, especialmente nas plantas CS alagadas. Os valores de TTE (Figura 1E) mantiveram-se elevados nas plantas alagadas até o 11º dia da fase de recuperação, mas, ao final do experimento, os valores de TTE das plantas CT alagadas aproximaram-se dos valores das plantas-controle, enquanto os das plantas CS alagadas foram significativamente menores.

Os de valores  $F_v/F_m$  (Figura 2A) e  $F_o$  (Figura 2B) variaram significativamente, mas apenas nas plantas do CS. Essas plantas CS alagadas mantiveram valores reduzidos de  $F_v/F_m$  ( $0,65 \pm 0,00$ ) em relação aos das suas contrapartes-controle ( $0,79 \pm 0,01$ ), enquanto  $F_o$  aumentou consideravelmente (47%) em comparação ao observado nas plantas CS controle. Por outro lado, as plantas CT previamente alagadas mostraram recuperação completa dos parâmetros fotossintéticos, com valores de  $F_v/F_m$  ( $0,82 \pm 0,01$ ) comparáveis ao das suas contrapartes-controle ( $0,79 \pm 0,02$ ) e valores de  $F_o$  essencialmente semelhantes aos das plantas CT controle. Saliente-se que  $R_d$  (Figura 2D) não respondeu aos tratamentos aplicados na fase de recuperação, independentemente dos clones avaliados; no entanto, foi observada uma tendência de valores ligeiramente superiores em plantas CS alagadas em comparação aos das

suas contrapartes-controle, enquanto as plantas CT alagadas mantiveram valores próximos aos das plantas CT controle. Para  $V_{cmax}$  (Figura 2C), apenas CT previamente alagadas conseguiram restabelecer valores semelhantes aos das plantas-controle, enquanto as plantas CS alagadas exibiram redução ainda mais acentuada, de 77%, em comparação com suas contrapartes-controle.

A partir do 16º dia após a suspensão do alagamento, as plantas CT atingiram  $\Psi_{am}$  (Figura 3A) e  $\Psi_{md}$  (Figura 3B) semelhantes aos das plantas-controle, enquanto nas plantas CS os valores desses parâmetros continuaram declinando ao longo do período de recuperação. Adicionalmente, os valores de  $MSH_{50}$  e  $MSH_{88}$  (Tabela 2) foram significativamente menores nas plantas alagadas em comparação às suas contrapartes-controle. Especificamente, os valores de  $MSH_{50}$  foram -1,27 em CS e 0,70 em CT, enquanto nas plantas-controle foram 2,92 em CS e 3,32 em CT. Para  $MSH_{88}$ , os valores foram -0,93 em CS e 0,84 em CT nas plantas alagadas, comparados a 3,55 em CS e 3,80 em CT nas plantas-controle. Notavelmente, os valores das plantas CS alagadas foram negativos.

Após 30 dias de reoxigenação, as plantas CS previamente alagadas (Figura 4H) continuam a exibir sinais de seca de folhas predominantemente nos terços inferior e mediano, destacando uma recuperação incompleta em termos de aparência foliar e status hídrico. Por outro lado, as plantas CT (Figura 4J) mostram uma recuperação visível, com uma aparência mais próxima das plantas CT controle (Figura 4I), sugerindo uma maior resiliência ao estresse causado pelo alagamento.

#### 4. Discussão

No presente estudo, explorou-se como diferentes clones de eucalipto reagem ao estresse causado pelo alagamento, visando entender melhor suas estratégias de tolerância não somente ao alagamento *per se*, mas também durante a fase de recuperação. Observou-se que o excesso de água no solo restringiu substancialmente as trocas gasosas das plantas, resultando em diminuições em  $A$ ,  $g_s$  e  $E$  durante o alagamento. O comprometimento da performance fotossintética parece ter sido resultante de uma confluência de fatores fotoquímicos (menor  $F_v/F_m$ ), bioquímicos (quedas em  $V_{cmax}$ ) e difusionais (quedas em  $g_s$ ), fatores esses que foram afetados de modo similar independentemente das diferenças de tolerância ao alagamento entre os clones testados. Em ambos os clones também houve comprometimento das relações hídricas, a julgar-se pelas reduções de  $\Psi_w$ , que foram, a depender da posição relativa (na copa) das folhas

analisadas, mais pronunciadas nas plantas do clone sensível. Sugere-se que as plantas desse clone apresentaram uma disfunção hidráulica mais severa que a das plantas tolerantes, evidenciada por reduções em  $\Psi_w$  associadas a um maior nível de embolismo, fatores que devem ter comprometido o fluxo de água desde as raízes até as folhas (Jackson & Colmer, 2005; Bailey-Serres & Voesenek, 2008; Haverroth et al., 2024). No entanto, essa disfunção hidráulica tornou-se crítica apenas na fase de recuperação, pois foi nesse período que as plantas sensíveis atingiram valores de  $\Psi_w$  abaixo do  $P_{50}$ , resultando em maior formação de embolismos e limitação na capacidade de restaurar o transporte de água de maneira eficiente (Choat et al., 2012; 2018). Com efeito, após o alagamento, identifica-se uma diferença marcante na capacidade de recuperação entre os clones: enquanto o genótipo tolerante conseguiu recuperar sua performance fotossintética e sua capacidade de hidratação, as plantas sensíveis não foram capazes de restabelecer esses processos em magnitude similar à das plantas-controle. Portanto, sugere-se que a presumível tolerância diferencial ao alagamento evidenciada em nível de campo seja bem mais associada à fase de reoxigenação pós-alagamento do que ao alagamento propriamente dito (Haverroth et al. 2024).

#### 4.1. *Impactos do alagamento na performance fotossintética*

A hipoxia induzida nas raízes durante o alagamento pode desencadear uma cascata de efeitos nas vias metabólicas, afetando a eficiência das trocas gasosas e, conseqüentemente, a taxa fotossintética (Jackson & Colmer, 2005; Bailey-Serres & Voesenek, 2008). O alagamento impactou negativamente a eficiência fotossintética em ambos os clones, resultando em reduções em  $A$  e  $g_s$ . Embora a diminuição de  $g_s$  seja uma resposta comum à falta de oxigênio no solo, principalmente com o intuito de reduzir a perda de água por transpiração (Lin et al., 2022), o aumento em  $C_i$  nas plantas alagadas sugere que as limitações estomáticas, por si só, não explicariam as quedas em  $A$ . Esse aumento em  $C_i$  sugere que restrições adicionais, *e.g.* menor difusão de  $CO_2$  através do mesófilo (menor  $g_m$ ) poderiam restringir o fluxo de  $CO_2$  até os sítios de carboxilação da RuBisCO. De fato, alguns estudos têm associado o comprometimento do desempenho fotossintético em algumas espécies sob alagamento à queda de  $g_m$  (*e.g.* Araki et al., 2014; Ploschuk et al., 2018; Toral et al., 2021). Deve-se salientar, em todo o caso, que estimativas de  $C_i$  quando os valores de  $g_s$  são muito baixos (como no presente estudo) podem ser sobrestimadas (Boyer, 2015). Independentemente desse fato, sugere-se aqui que limitações difusionais, associadas às reduções de  $g_s$  e possivelmente de  $g_m$ , tenham tido um papel de destaque no comprometimento de  $A$ .

Além de limitações difusionais à fotossíntese, os presentes resultados também sugerem um comprometimento das reações bioquímicas da fotossíntese, a julgar-se pela redução de  $V_{\text{cmax}}$  sob condições de alagamento. Essas reduções podem estar associadas à diminuição da concentração de RuBisCO, como observado em plantas de cana-de-açúcar (Spinoso-Castillo et al., 2024), bem como a reduções na atividade da RuBisCO e na expressão de genes associados à maquinaria bioquímica da fotossíntese, conforme verificado em beterraba (Sha et al., 2024). Alguns estudos têm atribuído a queda de  $V_{\text{cmax}}$  à redução na atividade enzimática devido à menor disponibilidade de cofatores e substratos essenciais para a fotossíntese, como ATP e o NADPH (Marcar, 1993; Nicolás et al., 2005; Arbona et al., 2009; Kreuzwieser & Rennenberg, 2014; Li et al., 2015; Menezes-Silva et al., 2019).

#### 4.2. *Impactos do alagamento na eficiência fotoquímica e no estresse oxidativo*

Os parâmetros fotoquímicos foram severamente impactados pelo alagamento. Entretanto, é pouco provável que a menor eficiência fotoquímica tenha limitado diretamente a assimilação de carbono, haja vista que as reduções em  $A$  não foram proporcionais ao comportamento de TTE, que aumentou nas plantas alagadas. Esse aumento sugere um possível redirecionamento do fluxo de elétrons para vias alternativas, como a fotorrespiração ou dissipação térmica, na tentativa de evitar o acúmulo excessivo de energia nos centros de reação (Hunawa et al., 2017). Sugere-se que as reduções em TTE foram pouco ou nada associadas com concentrações de clorofilas (bem como de antocianinas), que se mantiveram virtualmente inalteradas em resposta aos tratamentos aplicados. Resultados semelhantes foram encontrados nos teores de clorofilas por Harguindeguy et al. (2018) ao avaliarem as diferenças de respostas à hipóxia e à disponibilidade de manganês nesses mesmos clones. Isso posto, é mais provável que o aumento da TTE tenha ocorrido em paralelo a uma elevação da pressão oxidativa nos cloroplastos (Marçal et al., 2021), possivelmente resultando em estresse oxidativo e danos à maquinaria fotossintética. Nesse contexto, a energia fotoquímica não poderia ser completamente utilizada em processos diretamente associados à fotossíntese e/ou fotorrespiração, gerando, portanto, um excedente de elétrons que, caso não seja adequadamente dissipado, pode gerar fotoinibição e fotooxidação do aparelho fotossintético (Krause e Weis, 1991). Com efeito, o comportamento da razão  $F_v/F_m$  tem sido usado em estudos de tolerância a estresses (Pearson et al., 2013; Repo et al., 2016; Toral-Juaréz et al., 2021), com valores inferiores a 0,78 indicando algum grau de fotoinibição à fotossíntese (Krause e Weis, 1991), fato que ocorreu com os dois clones sob alagamento. Entretanto, nas plantas sensíveis, as quedas em  $F_v/F_m$  foram associadas a aumentos em  $F_o$ , o que sugere fotodanos mais severos ao

FSII, indicando uma fotoinibição crônica, enquanto a manutenção de  $F_o$  nas plantas tolerantes não permite uma inferência clara sobre uma possível ocorrência de fotodanos (Adams et al., 2004). Em todo o caso, observaram-se reduções na atividade da SOD nos dois clones (bem como na atividade da POX no clone tolerante) associadas com aumento no extravasamento de eletrólitos (EE), que foi mais pronunciado no clone tolerante, sugerindo que, apesar do aumento na TTE, a dissipação do excesso de elétrons pode ter ocorrido de maneira diferente entre os clones. Tomados em conjunto, os presentes resultados sugerem que o aumento da pressão oxidativa nos cloroplastos não foi adequadamente contrabalanceada por um aumento na dissipação do excesso de energia radiante, provavelmente resultando num aumento da produção de EROs. Dado que a atividade das enzimas antioxidantes se manteve invariável ou reduziu-se em resposta ao alagamento, o aumento em EE pode ser tomado como um forte indicativo de que ambos os clones sofreram de fotodanos e fotooxidação de suas estruturas celulares. Em todo o caso, conforme se evidencia abaixo, a extensão e magnitude desses danos foi, muito provavelmente, dependente da posição relativa das folhas ao longo da copa, sendo maior no clone sensível.

#### 4.3. *Impactos do alagamento na taxa respiratória e metabolismo*

As diferenças clonais de sensibilidade ao alagamento podem também estar relacionadas a alterações em  $R_d$ , especialmente em plantas sensíveis ao alagamento, que exibiram menores valores de  $R_d$  (incluindo a fase de recuperação) mas sem decréscimos nos níveis foliares de substratos (carboidratos). Nesse contexto, a redução da produção de ATP não estaria limitada à disponibilidade de substratos, mas mais provavelmente a algum comprometimento das reações bioquímicas da respiração (Jackson & Colmer, 2005; Kreuzwieser & Rennenberg, 2014). Em plantas sensíveis, a redução em  $R_d$  pode ser uma estratégia adaptativa para conservar energia, mas também pode refletir um colapso metabólico frente à incapacidade de compensar a falta de oxigênio (Bailey-Serres & Voesenek, 2008; Bailey-Serres et al., 2012). Por outro lado, plantas tolerantes mantêm  $R_d$  estável, sugerindo maior resiliência metabólica e capacidade de suprir a demanda energética para sustentar processos básicos e mecanismos de proteção antioxidante durante o alagamento (Kreuzwieser et al., 2004; Bailey-Serres & Voesenek, 2008).

#### 4.4. *Impactos do alagamento nas relações hidráulicas*

Em condições de alagamento, as folhas das plantas são expostas ao ar, enquanto as raízes permanecem submersas, criando uma zona anaeróbica na rizosfera que dificulta a absorção de

água (Bhusal et al., 2023). Com efeito, o excesso de água no solo reduz a condutividade hidráulica da raiz (Schmull e Thomas, 2000; Rasheed-Depardieu et al., 2015; Herzog et al., 2016), o que reduz a capacidade de transporte de água, do solo para a parte aérea, ocasionando um déficit hídrico, conforme observado nas plantas alagadas pela redução do potencial hídrico (Nicolás et al., 2005; Aroca et al., 2012; Kreuzwieser & Rennenberg, 2014; Repo et al. 2016). Recentemente Haverroth et al (2024) demonstrou que reduções na capacidade de transporte de água nas folhas também são observadas durante o alagamento e intensificadas na fase de recuperação.

As quedas de  $\Psi_{am}$  e  $\Psi_{md}$  (Fig. 3) são condizentes com uma limitação hidráulica inicial, devido à redução na condutância hidráulica das raízes e folhas durante o alagamento (Tournaire-Roux et al., 2003; Haverroth et al., 2024). Durante o alagamento, essas quedas ocorrem antes da formação de embolismos significativos, mas são intensificadas pela redução da condutividade hidráulica após o surgimento de embolismos, especialmente na fase de recuperação (Haverroth et al., 2024). Esse processo resulta no fechamento estomático, que ocorre precocemente como mecanismo de defesa para minimizar a perda de água pela transpiração (Schmull e Thomas, 2000; Aroca et al., 2012; Li et al., 2015). Embora a redução em  $g_s$  coincida com a queda na condutância foliar, isso ocorreria antes que o potencial hídrico atinja os valores de  $\Psi_{PPT}$  (-2,08 MPa em CS e -2,41 MPa em CT). Estes dados sugerem que o fechamento estomático é consistente com um mecanismo ativo, possivelmente mediado por sinais hormonais (e.g., etileno ou ABA) ou bioquímicos nas folhas, de modo que a produção transiente de ABA induzida por reduções moderadas de  $\Psi_w$  poderiam explicar o fechamento estomático, mesmo que os valores de  $\Psi_w$  subam novamente em resposta ao controle da transpiração (Pinheiro et al., 2004; Christmann et al., 2013; Zhang et al., 2018; Cardoso et al., 2020; Haverroth et al., 2024). A  $g_s$  atua no equilíbrio entre  $E$  e  $\Psi_w$ , de modo que o ajuste dessa função é um dos primeiros mecanismos de defesa da planta em condições de estresse (Bhusal et al., 2023). Portanto, é plausível que as quedas do  $\Psi_w$  possam representar um sinal hidráulico para o fechamento estomático, o que concorreria para uma limitação estomática à fotossíntese dos clones, como relatado em outras espécies sob alagamento (Nicolás et al., 2005; Shao et al., 2013; Kreuzwieser & Rennenberg, 2014; Ploschuk et al., 2018; Toral-Juaréz et al., 2021).

É mister ressaltar, não obstante, que as quedas de  $\Psi_{am}$  e  $\Psi_{md}$ , ao final da fase de alagamento, diferiu entre os clones, dependendo da posição da folha amostrada ao longo da copa. Essas quedas não foram uniformes entre folhas de uma dada posição da copa, conforme se evidencia ao compararem-se os dados da Fig. 3 com os da Tabela 1. Nos terços médio e

inferior da copa, valores significativamente menores de  $\Psi_{am}$  no clone tolerante (-0,45 a -0,63 MPa contra -1,61 a -3,19 MPa no clone sensível), mas com valores similares de  $\Psi_{md}$ , sugerem que a recuperação (parcial) noturna da hidratação foliar foi muito mais pronunciada no clone tolerante, sugerindo maior condutividade hidráulica. Saliente-se que as plantas do clone tolerante exibiram valores mais negativos de  $\Psi_{100}$  e  $\Psi_{PPT}$  que os do clone sensível (sem alterações de  $\epsilon$ ), associados a uma maior capacitância hidráulica, são consistentes com uma maior capacidade de tamponar as quedas em  $\Psi_w$ , utilizando reservas internas de água (capacitância) durante os estágios iniciais do estresse, quando a absorção de água pela raiz é drasticamente reduzida.

Os valores de  $P_{50}$  ora encontrados ( $<-4,0$  MPa) são mais negativos que os reportados por Oliveira et al. (2022) avaliando clones de eucalipto com distintos graus de tolerância à seca (-3,5 a -4,0 MPa). O  $P_{50}$  corresponde ao  $\Psi_w$  responsável pela perda de 50% da condutividade hidráulica do xilema e tem importante papel na previsão de mortalidade de plantas (Choat et al., 2012; 2018). Isoladamente, esses valores mais negativos de  $P_{50}$  sugerem uma tolerância relativamente elevada à deficiência hídrica dos clones deste estudo. No entanto, a presença de embolismos significativos durante o alagamento é improvável, dado que o potencial hídrico não atingiu o  $P_{12}$  (ponto de perda de 12% da condutividade hidráulica). Estes resultados corroboram a hipótese de que o embolismo se intensifica após a reoxigenação, quando o potencial hídrico pode cair rapidamente devido ao aumento da demanda evaporativa e limitações na hidráulicas nas raízes e folhas (Haverroth et al., 2024). Em todo o caso, registre-se que os valores de  $P_{50}$  foram determinados apenas em folhas do terço médio da copa, e não se pode descartar que esses valores sejam diferentes ao longo da copa, conforme observado em abacate (Cardoso et al., 2020). Ademais, a perda de condutividade hidráulica (e embolismo) pode variar entre folhas de uma mesma posição da copa, levando à abscisão ou morte de parte da folhagem, conforme observado em café (Martins et al., 2019).

A ocorrência de seca de folhas predominantemente nos terços inferior e mediano, conforme evidenciado no clone sensível, mas não no clone tolerante (Figura 4), sugere que as disfunções hidráulicas foram mais acentuadas nessas regiões. Esse padrão pode estar relacionado à menor condutância em folhas mais velhas, que apresentam menor capacidade de transporte de água, ou à proximidade das raízes, onde sinais químicos provenientes da rizosfera anaeróbica, como alterações no pH do xilema, podem contribuir para o desacoplamento hidráulico entre folha e caule (Jackson et al., 2003; Nicolás et al., 2005; Aroca et al., 2012; Grunwald et al., 2021). Além disso, as menores  $MSH_{50}$  e  $MSH_{88}$  observadas no clone sensível,

em comparação ao clone tolerante, indicam maior suscetibilidade a disfunções hidráulicas e estresse oxidativo nessas regiões da copa, o que pode explicar a maior mortalidade foliar, o que parece consistente com as observações de Cardoso et al. (2020), como também especulado por Oliveira et al. (2022) em eucalipto. Resta demonstrar a ocorrência de uma possível variabilidade dos valores de  $P_{50}$  (e por extensão de MSH) ao longo da copa das plantas. Por fim, é lícito presumir que, caso as folhas que apresentaram algum sinal de seca fossem amostradas, provavelmente exibiriam sinais de danos oxidativos (e.g., extravasamento de eletrólitos) numa extensão superior à reportada na Fig. 5.

#### 4.5. *Reoxigenação pós-alagamento*

Durante o alagamento, os fatores fisiológicos e bioquímicos que influenciam a recuperação das plantas são críticos. Estudos mostraram que plantas que conseguem manter a integridade dos seus sistemas hidráulicos e fotossintéticos durante o alagamento têm maiores chances de recuperação e resiliência (Sasidharan et al., 2017). Em plantas sensíveis, a falha em recuperar rapidamente os valores de  $\Psi_w$  (e  $g_s$ ) pode resultar em danos irreversíveis ao xilema e à fotossíntese, afetando negativamente o crescimento e a produtividade (Choat et al., 2012; 2018). Registre-se que o comportamento das trocas gasosas dos dois clones foi muito similar até os 16 dias de reoxigenação pós-alagamento, enquanto se observou uma clara tendência de menores valores de  $\Psi_{am}$  e  $\Psi_{md}$  no clone sensível; após os 16 dias de recuperação, observou-se uma completa recuperação do desempenho fotossintético (sem variações de  $R_d$ ) e de  $\Psi_{am}$  e  $\Psi_{md}$  no clone tolerante, mas não no sensível.

A recuperação da capacidade de assimilação de carbono, nas plantas do clone tolerante, foi acompanhada de recuperação de  $g_s$  (fator difusional), da razão  $F_v/F_m$  e de TTE (fatores fotoquímicos) e de  $V_{cmax}$  (fatores bioquímicos). Os valores de  $F_v/F_m$  ( $>0,80$ ) com valores de  $F_o$  similares ao das plantas-controle sugerem inexistência de fotoinibição e de danos fotooxidativos ao final do experimento. Em contraste, no clone sensível, nenhum desses fatores recuperou-se, mesmo após 31 dias de reoxigenação. Saliente-se, inclusive, que esse clone exibiu baixos valores de  $F_v/F_m$  (0,65) acompanhados de aumentos expressivos em  $F_o$ , sugerindo uma exacerbção do estado de fotoinibição (Krause e Weis, 1991) em relação ao observado ao final do período de alagamento. Além disso, a seca da folhagem evidenciada na Fig. 4 bem indica a existência de danos hidráulicos e oxidativos presentes no clone sensível.

A capacidade de recuperação pós-alagamento no clone tolerante pode estar atribuída à sua maior resiliência hidráulica, o que permitiu a retomada do transporte eficiente de água e nutrientes após o alívio do estresse hídrico. Estudos têm sugerido que a capacidade de uma planta em manter o transporte de água através do xilema durante e após o estresse hídrico é um fator-chave para sua sobrevivência e recuperação (Brodrigg et al., 2010; Skelton et al., 2017). Após o alagamento (dia 27), o  $\Psi_w$  foliar das plantas CT também retornaram a valores semelhantes ao das plantas-controle, diferentemente das plantas CS que atingiram valores ainda mais negativos. O déficit hídrico em folhas pós-alagamento tem sido observado em outros estudos que apontam a redução da condutividade hidráulica causando danos significativos à absorção e ao transporte de água (Nicolás et al., 2005; Fukao et al., 2011; Tamang e Fukao, 2015; Toral-Juaréz et al., 2021; Haverroth et al., 2024). Em associação, os valores de  $\Psi_w$  nas plantas CS foram inferiores aos do P<sub>50</sub> (-4,23 MPa) e P<sub>88</sub> (-4,85 MPa), mesmo na antemãhã (-4,93 MPa), enquanto plantas CT tiveram seu menor valor de  $\Psi_w$  (-4,03 MPa), ao meio-dia (P<sub>50</sub> = -4,54 MPa; P<sub>88</sub> = -5,44 MPa). Registre-se que foram observadas MSH<sub>50</sub> negativas no clone sensível, mas não no clone tolerante. Com efeito, maiores valores de MSH<sub>50</sub> e MSH<sub>88</sub> estão associados como maior proteção contra o embolismo (Martin-StPaul et al., 2017; Li et al., 2018; Blackman et al., 2019), o que estaria em consonância com a melhor performance hidráulica no clone tolerante.

O clone tolerante também mostrou uma maior capacidade de modular a sua  $g_s$  de forma a minimizar as perdas de água durante o alagamento, mas permitindo a retomada eficiente das trocas gasosas na fase de recuperação. O fechamento estomático observado durante o alagamento é uma estratégia bem documentada em muitas espécies, e serve para reduzir a transpiração e conservar água em condições de baixa disponibilidade hídrica (Schmull & Thomas, 2000; Aroca et al., 2012). Entretanto, a reabertura dos estômatos após o alívio do estresse é igualmente importante para permitir a retomada da fotossíntese e do crescimento, como observado nas plantas CT. Em contrapartida, as plantas CS mostraram uma menor capacidade de recuperação nesse aspecto, o que sugere que o fechamento estomático pode ter sido mais prolongado e/ou que a disfunção hidráulica causada pelo alagamento tenha comprometido a reabertura estomática.

Tomados em conjunto, os dados indicam uma associação de limitações hidráulicas e bioquímicas à fotossíntese de clones de eucalipto. Após 38 dias de experimento, o clone tolerante conseguiu manter  $\Psi_w$  menos negativos, possivelmente melhorando sua capacidade de absorção e transporte de água, sustentando a recuperação fotossintética e metabólica (Ou et al.,

2011; Sala et al., 2012). Os resultados sugerem que o clone tolerante possui uma resiliência intrínseca que permite a recuperação após o alagamento, o que pode ser relacionado à prevenção de danos oxidativos, modulando a homeostase redox (Ferner et al., 2012). A capacidade de evitar a formação de embolismos e a recuperação da condutividade hidráulica do xilema é crucial para a sustentação da fotossíntese e dos processos metabólicos necessários para o crescimento e a produtividade das plantas sob estresse de (pós-) alagamento (Martínez-Alcántara et al., 2012). Portanto, o presente estudo destaca a importância de desenvolver estratégias de manejo que considerem a seleção de clones mais tolerantes ao alagamento, visando melhorar a sustentabilidade das plantações de eucalipto em regiões propensas a inundações.

## **5. Conclusão**

Este estudo avança no entendimento da tolerância ao alagamento em clones de eucalipto, destacando que as limitações bioquímicas, hidráulicas e difusionais são fatores cruciais para a resiliência em ambientes alagados e na recuperação da fotossíntese pós-estresse. Os resultados mostram que o clone tolerante apresentou resistência superior à do clone sensível, tanto no desempenho fotossintético quanto na recuperação hídrica pós-alagamento e menor mortalidade de folhas. A pesquisa destaca a importância dos mecanismos de adaptação fotossintética e da capacidade hidráulica que permitem ao clone tolerante manter equilíbrio hídrico e responder mais rapidamente à interrupção do alagamento. Sugere-se que a eficácia na manutenção da hidratação e o controle de embolismos sejam essenciais para a tolerância ao alagamento, influenciando as estratégias de manejo e melhoramento genético de clones de eucalipto em regiões sujeitas a inundações. Futuros estudos poderão investigar mais profundamente o papel de outros mecanismos antioxidantes e as diferentes intensidades de alagamento para ampliar nosso entendimento sobre a adaptação ao estresse hídrico nesses clones.

## **6. Referências**

Adams, WW, Zarter, CR., Ebbert, V, Demmig-Adams, B (2004) Photoprotective strategies of overwintering evergreens. *Bioscience*, 54(1):41-49.

Alemu, ST (2020) Photosynthesis limiting stresses under climate change scenarios and role of chlorophyll fluorescence: A review article. *Cogent Food & Agriculture* 6(1):1785136.

- Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2012) Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany* 63:43–57.
- Bailey-Serres J, Colmer TD (2014) Plant tolerance of flooding stress - recent advances. *Plant Cell and Environment* 37:2211–2215.
- Bailey-Serres J, Lee SC, Brinton E (2012) Waterproofing crops: Effective flooding survival strategies. *Plant Physiology* 160:1698–1709.
- Bailey-Serres J, Voesenek LACJ (2008) Flooding stress: Acclimations and genetic diversity. *Annual Review of Plant Biology* 59:313–339.
- Bartlett MK, Scoffoni C, Sack L (2012) The determinants of leaf turgor loss point and prediction of drought tolerance of species and biomes: A global meta-analysis. *Ecology Letters* 15:393–405.
- Bhusal, N, Park, IH, Jeong, S, Choi, BH, Han, SG, Yoon, TM (2023) Photosynthetic traits and plant hydraulic dynamics in *Gamhong apple* cultivar under drought, waterlogging, and stress recovery periods. *Scientia Horticulturae* 321:112276.
- Blackman CJ, Creek D, Maier C, Aspinwall MJ, Drake JE, Pfautsch S, O’Grady A, Delzon S, Medlyn BE, Tissue DT, Choat B, Meinzer F (2019) Drought response strategies and hydraulic traits contribute to mechanistic understanding of plant dry-down to hydraulic failure. *Tree Physiology* 39:910–924.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248–254.
- Branco MC da S, de Almeida AAF, Dalmolin ÂC, Ahnert D, Baligar VC (2017) Influence of low light intensity and soil flooding on cacao physiology. *Scientia Horticulturae* 217:243–257.
- Brodribb TJ, Skelton RP, Mcadam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P (2016) Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytologist* 209:1403–1409.
- Camisón Á, Ángela Martín M, Dorado FJ, Moreno G, Solla A (2020) Changes in carbohydrates induced by drought and waterlogging in *Castanea sativa*. *Trees - Structure and Function* 34:579–591.

- Camisón Á, Martín MÁ, Sánchez-Bel P, Flors V, Alcaide F, Morcuende D, Pinto G, Solla A (2019) Hormone and secondary metabolite profiling in chestnut during susceptible and resistant interactions with *Phytophthora cinnamomi*. *Journal of Plant Physiology* 241
- Cardoso AA, Batz TA, McAdam SAM (2020) Xylem embolism resistance determines leaf mortality during drought in *Persea americana*. *Plant Physiology* 182:547–554.
- Carillo P (2011) PROTOCOL: Extraction and determination of proline molecular fingerprinting of crop plants View project residual biomass conversion to bioenergy View project. <https://www.researchgate.net/publication/211353600>
- Chappelka AH, Grulke NE (2016) Disruption of the “disease triangle” by chemical and physical environmental change. *Plant Biology* 18:5–12.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn BE (2018) Triggers of tree mortality under drought. *Nature* 558:531–539.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, Cochard H, Delzon S, Bhaskar R, Bucci SJ, Feild TS, Gleason SM, Hacke UG, Jacobsen AL, Lens F, Maherali H, Martínez-Vilalta J, Mayr S, Mencuccini M, Mitchell PJ, Nardini A, Pittermann J, Pratt RB, Sperry JS, Westoby M, Wright IJ, Zanne AE (2012) Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* 491:752–755.
- Curi N (2000) Interpretação e decodificação do levantamento de solos das áreas da Aracruz Celulose S.A. no Espírito Santo e sul da Bahia para o cultivo de eucalipto. In: Levantamento generalizado e semidetalhado de solos da Aracruz Celulose S.A. no Espírito Santo e sul da Bahia para o cultivo de eucalipto. EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, Rio de Janeiro, pp 70–80.
- Cusati GG, Neto JD, Soares AC, Torres FTP, Monteiro VS, Souza CM de (2013) Avaliação de cavitação e embolia em eucalipto com predisposição a seca do ponteiro do vale do rio doce. In: II Reunião Oeste de Ciência do Solo. IF Goiano e SBCS, Rio Verde – GO
- Da-Silva, CJ & do Amarante, L (2020) Time-course biochemical analyses of soybean plants during waterlogging and reoxygenation. *Environmental and Experimental Botany*, 180, 104242.

De Kauwe, MG, Lin, Y-S, Wright, IJ, Medlyn, BE, Crous, KY, Ellsworth, DS, Maire, V, Prentice, IC, Atkin, OK, Rogers, A, Niinemets, Ü, Serbin, SP, Meir, P, Uddling, J, Togashi, HF, Tarvainen, L, Weerasinghe, LK, Evans, BJ, Ishida, FY and Domingues, TF (2016) A test of the ‘one-point method’ for estimating maximum carboxylation capacity from field-measured, light-saturated photosynthesis. *New Phytologist* 210: 1130-1144.

Dias PC, Araujo WL, Moraes GABK, Barros RS, DaMatta FM (2007) Morphological and physiological responses of two coffee progenies to soil water availability. *Journal of Plant Physiology* 164:1639–1647.

Elkelish AA, Alhaithloul HAS, Qari SH, Soliman MH, Hasanuzzaman M (2020) Pretreatment with *Trichoderma harzianum* alleviates waterlogging-induced growth alterations in tomato seedlings by modulating physiological, biochemical, and molecular mechanisms. *Environmental and Experimental Botany* 171

Ferner E, Rennenberg H, Kreuzwieser J (2012) Effect of flooding on C metabolism of flood-tolerant (*Quercus robur*) and non-tolerant (*Fagus sylvatica*) tree species. *Tree Physiology* 32:135–145.

Fernie AR, Roscher A, Ratcliffe RG, Kruger NJ (2001) Fructose 2,6-bisphosphate activates pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling in heterotrophic cells. *Planta* 212:250–263.

Fukao T, Barrera-Figueroa BE, Juntawong P, Peña-Castro JM (2019) Submergence and waterlogging stress in plants: A review highlighting research opportunities and understudied aspects. *Frontiers in Plant Science* 10:1–24.

Fukao T, Yeung E, Bailey-Serres J (2011) The submergence tolerance regulator SUB1A mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice. *Plant Cell* 23:412–427.

Geigenberger P (2003) Response of plant metabolism to too little oxygen. *Current Opinion in Plant Biology* 6:247–256.

Genty B, Briantais J-M, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects* 990:87–92.

Gonçalves JL de M, Alvares CA, Higa AR, Silva LD, Alfenas AC, Stahl J, Ferraz SF de B, Lima W de P, Brancalion PHS, Hubner A, Bouillet JPD, Laclau JP, Nouvellon Y, Epron D (2013) Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraints in Brazilian eucalypt plantations. *Forest Ecology and Management* 301:6–27.

Grunwald Y, Wigoda N, Sade N, Yaaran A, Torne T, Gosa SC, Moran N, Moshelion M (2021). Arabidopsis leaf hydraulic conductance is regulated by xylem sap pH, controlled, in turn, by a P-type H<sup>+</sup>-ATPase of vascular bundle sheath cells. *The Plant Journal*, 106(2), 301-313.

Hanawa H, Ishizaki K, Nohira, K, Takagi D, Shimakawa G, Sejima T, Shaku K, Makino A, Miyake C (2017) Land plants drive photorespiration as higher electron-sink: comparative study of post-illumination transient O<sub>2</sub>-uptake rates from liverworts to angiosperms through ferns and gymnosperms. *Physiologia Plantarum*, 161(1), 138-149.

Harguindeguy I, de Castro GF, Novais SV, Vergutz L, Araujo WL, Novais RF (2018) Physiological responses to hypoxia and manganese in eucalyptus clones with differential tolerance to vale do Rio Doce shoot dieback. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 42:1–16.

Haverroth, EJ, Da-Silva, CJ, Taggart, M, Oliveira, LA, Cardoso, AA (2024) Shoot hydraulic impairments induced by root waterlogging: parallels and contrasts with drought. *Plant Physiology*, kiae336.

Herzog M, Striker GG, Colmer TD, Pedersen O (2016) Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat - a review of root and shoot physiology. *Plant, Cell and Environment* 39:1068–1086.

IBÁ (2024) Indústria Brasileira de Árvores (IBÁ). Relatório Anual 2024. <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio2024.pdf> (15 November 2024, date last accessed).

Jackson MB, Saker LR, Crisp CM, Else MA, Janowiak F (2003). Ionic and pH signalling from roots to shoots of flooded tomato plants in relation to stomatal closure. *Plant and Soil*, 253, 103-113.

Jackson, MB, Colmer, T (2005) Response and adaptation by plants to flooding stress. *Annals of Botany* 96(4):501-505.

Kogawara S, Yamanoshita T, Norisada M, Masumori M, Kojima K (2006) Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. *Tree Physiology* 26(11):1413–1423.

Krause, AG, Weis, E (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Biology*, 42: 313-349.

Kreuzwieser J, Kreuzwieser J, Fürniss S, Rennenberg H (2002) Impact of waterlogging on the N-metabolism of flood tolerant and non-tolerant tree species. *Plant, Cell and Environment* 25:1039–1049.

Kreuzwieser J, Rennenberg H (2014) Molecular and physiological responses of trees to waterlogging stress. *Plant, Cell and Environment* 37:2245–2259.

Leite FP, Novais RF, Silva IR, Barros NF, Neves JCL, Medeiros AGB, Ventrella MCo, Villani EM de A (2014) Manganese accumulation and its relation to “eucalyptus shoot blight in the Vale do Rio Doce.” *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 38:193–204.

Li M, López R, Venturas M, Pita P, Gordaliza GG, Gil L, Rodríguez-Calcerrada J (2015) Greater resistance to flooding of seedlings of *Ulmus laevis* than *Ulmus minor* is related to the maintenance of a more positive carbon balance. *Trees - Structure and Function* 29:835–848.

Li X, Blackman CJ, Choat B, Duursma RA, Rymer PD, Medlyn BE, Tissue DT (2018) Tree hydraulic traits are coordinated and strongly linked to climate-of-origin across a rainfall gradient. *Plant, Cell and Environment* 41:646–660.

Lin, SY, Chen, PA, Zhuang, BW (2022) The stomatal conductance and  $F_v/F_m$  as the indicators of stress tolerance of avocado seedlings under short-term waterlogging. *Agronomy*, 12(5): 1084.

Lisec J, Schauer N, Kopka J, Willmitzer L, Fernie AR (2006) Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. *Nature Protocols* 1:387–396.

Luan H, Shen H, Pan Y, Guo B, Lv C, Xu R (2018) Elucidating the hypoxic stress response in barley (*Hordeum vulgare* L.) during waterlogging: A proteomics approach. *Scientific Reports*

- Martínez-Alcántara B, Jover S, Quiñones A, Forner-Giner M ángeles, Rodríguez-Gamir J, Legaz F, Primo-Millo E, Iglesias DJ (2012) Flooding affects uptake and distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings. *Journal of Plant Physiology* 169:1150–1157.
- Martins SC, Sanglard ML, Morais LE, Menezes-Silva PE, Mauri R, Avila RT, Vital CE, Cardoso AC, DaMatta FM (2019) How do coffee trees deal with severe natural droughts? An analysis of hydraulic, diffusive and biochemical components at the leaf level. *Trees* 33:1679-1693.
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H (2017) Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecology Letters* 20:1437–1447.
- Matallana-Ramirez, LP, Whetten, RW, Sanchez, GM, Payn, KG (2021) Breeding for climate change resilience: a case study of loblolly pine (*Pinus taeda* L.) in North America. *Frontiers in Plant Science* 12:606908.
- McAdam SAM, Brodribb TJ, Ross JJ (2016) Shoot-derived abscisic acid promotes root growth. *Plant, Cell and Environment* 39:652–659.
- Medina EF, Mayrink GCV, Dias CR, Vital CE, Ribeiro DM, Silva IR, Merchant A (2019) Physiological and biochemical responses of *Eucalyptus* seedlings to hypoxia. *Annals of Forest Science* 76:1–12.
- Menezes-Silva PE, Loram-Lourenço L, Alves RDFB, Sousa LF, Almeida SE da S, Farnese FS (2019) Different ways to die in a changing world: Consequences of climate change for tree species performance and survival through an ecophysiological perspective. *Ecology and Evolution* 9:11979–11999.
- Mozo, I, Rodríguez, ME, Monteoliva, S, Luquez, VM (2021) Floodwater depth causes different physiological responses during post-flooding in willows. *Frontiers in Plant Science* 12:575090.
- Nicolás E, Torrecillas A, Dell’Amico J, Alarcón JJ (2005) The effect of short-term flooding on the sap flow, gas exchange and hydraulic conductivity of young apricot trees. *Trees - Structure and Function* 19:51–57.

Olmo-Vega A, García-Sánchez F, Simón-Grao S, Simón I, Lidón V, Nieves M, Martínez-Nicolás JJ (2017) Physiological responses of three pomegranate cultivars under flooded conditions. *Scientia Horticulturae* 224:171–179.

Ou LJ, Dai XZ, Zhang ZQ, Zou XX (2011) Responses of pepper to waterlogging stress. *Photosynthetica* 49:339–345.

Pearson M, Saarinen M, Nummelin L, Heiskanen J, Roitto M, Sarjala T, Laine J (2013) Tolerance of peat-grown Scots pine seedlings to waterlogging and drought: Morphological, physiological, and metabolic responses to stress. *Forest Ecology and Management* 307:43–53.

Pedersen O, Perata P, Voesenek LACJ (2017) Flooding and low oxygen responses in plants. *Functional Plant Biology* 44:iii–vi.

Peuke AD, Gessler A, Trumbore S, Windt CW, Homan N, Gerkema E, van As H (2015) Phloem flow and sugar transport in *Ricinus communis* L. is inhibited under anoxic conditions of shoot or roots. *Plant, Cell and Environment* 38:433–447.

Pinheiro HA, DaMatta FM, Chaves ARM, Fontes EPB, Loureiro ME (2004) Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* 167:1307–1314.

Ploschuk RA, Miralles DJ, Colmer TD, Ploschuk EL, Striker GG (2018) Waterlogging of winter crops at early and late stages: Impacts on leaf physiology, growth and yield. *Frontiers in Plant Science* 871

Polacik KA, Maricle BR (2013) Effects of flooding on photosynthesis and root respiration in saltcedar (*Tamarix ramosissima*), an invasive riparian shrub. *Environmental and Experimental Botany* 89:19–27.

Pompeiano A, Huarancca Reyes T, Moles TM, Guglielminetti L, Scartazza A (2019) Photosynthetic and growth responses of *Arundo donax* L. Plantlets under different oxygen deficiency stresses and reoxygenation. *Frontiers in Plant Science* 10

Rasheed-Depardieu C, Parelle J, Tatin-Froux F, Parent C, Capelli N (2015) Short-term response to waterlogging in *Quercus petraea* and *Quercus robur*: A study of the root hydraulic responses and the transcriptional pattern of aquaporins. *Plant Physiology and Biochemistry* 97:323–330.

- Repo T, Launiainen S, Lehto T, Sutinen S, Ruhanen H, Heiskanen J, Laurén A, Silvennoinen R, Vapaavuori E, Finér L (2016) The responses of scots pine seedlings to waterlogging during the growing season. *Canadian Journal of Forest Research* 46:1439–1450.
- Sala A, Woodruff DR, Meinzer FC (2012) Carbon dynamics in trees: Feast or famine? *Tree Physiology* 32:764–775.
- Sano Y, Okamura Y, Utsumi Y (2005) Visualizing water-conduction pathways of living trees: selection of dyes and tissue preparation methods, *Tree Physiology* 25(3):269–275.
- Sasidharan R, Bailey-Serres J, Ashikari M, Atwell BJ, Colmer TD, Fagerstedt K, Fukao T, Geigenberger P, Hebelstrup KH, Hill RD, Holdsworth MJ, Ismail AM, Licausi F, Mustroph A, Nakazono M, Pedersen O, Perata P, Sauter M, Shih MC, Sorrell BK, Striker GG, van Dongen JT, Whelan J, Xiao S, Visser EJW, Voesenek LACJ (2017) Community recommendations on terminology and procedures used in flooding and low oxygen stress research. *New Phytologist* 214:1403–1407.
- Sasidharan R, Voesenek LACJ (2015) Ethylene-mediated acclimations to flooding stress. *Plant Physiology* 169:3–12.
- Schmull M, Thomas FM (2000) Morphological and physiological reactions of young deciduous trees (*Quercus robur* L., *Q. petraea* [Matt.] Liebl., *Fagus sylvatica* L.) to waterlogging. *Plant and Soil* 225:227–242.
- Sha, S, Wang, G, Liu, J, Wang, M, Wang, L, Liu, Y., ... Wang, Y (2024) Regulation of photosynthetic function and reactive oxygen species metabolism in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars under waterlogging stress and associated tolerance mechanisms. *Plant Physiology and Biochemistry*, 210: 108651.
- Shao GC, Lan JJ, Yu SE, Liu N, Guo RQ, She DL (2013) Photosynthesis and growth of winter wheat in response to waterlogging at different growth stages. *Photosynthetica* 51:429–437.
- Silva PEM, Cavatte PC, Morais LE, Medina EF, DaMatta FM (2013) The functional divergence of biomass partitioning, carbon gain and water use in *Coffea canephora* in response to the water supply: Implications for breeding aimed at improving drought tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 87:49–57.

Smith MG, Arndt SK, Miller RE, Kasel S, Bennett LT (2018) Trees use more non-structural carbohydrate reserves during epicormic than basal resprouting. *Tree Physiology* 38:1779–1791.

Sousa EP de, Soares NS, Silva ML da, Valverde SR (2011) Desempenho do setor florestal para a economia brasileira: uma abordagem da matriz insumo-produto. *Revista Árvore* 34:1129–1138.

Spinoso-Castillo, JL, Mancilla-Álvarez, E, Bello-Bello, JJ (2024) *In vitro* response of sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrid) plantlets to flooding stress. *Journal of Biotechnology*, 393: 74-80.

Tamang BG, Fukao T (2015) Plant adaptation to multiple stresses during submergence and following desubmergence. *International Journal of Molecular Sciences* 16:30164–30180.

Tomasella M, Häberle KH, Nardini A, Hesse B, Machlet A, Matyssek R (2017) Post-drought hydraulic recovery is accompanied by non-structural carbohydrate depletion in the stem wood of Norway spruce saplings. *Scientific Reports* 7:1–13.

Toral-Juárez MA, Avila RT, Cardoso AA, Brito FAL, Machado KLG, Almeida WL, Souza RPB, Martins SCV, DaMatta FM (2021) Drought-tolerant coffee plants display increased tolerance to waterlogging and post-waterlogging reoxygenation. *Environmental and Experimental Botany* 182

Tournaire-Roux C, Sutka M, Javot H, Gout E, Gerbeau P, Luu DT, Bligny R, Maurel C (2003) Cytosolic pH regulates root water transport during anoxic stress through gating of aquaporins. *Nature*, 425(6956):393-397.

Trueba S, Pan R, Scoffoni C, John GP, Davis SD, Sack L (2019) Thresholds for leaf damage due to dehydration: declines of hydraulic function, stomatal conductance and cellular integrity precede those for photochemistry. *New Phytologist* 223:134–149.

Tyree MT, Hammel HT (1972) The measurement of the turgor pressure and the water relations of plants by the pressure-bomb technique. *Journal of experimental Botany*, 23(1), 267-282.

Valentini R, Epron D, de Angelis P, Matteucci G, Dreyer E (1995) In situ estimation of net CO<sub>2</sub> assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak (*Q. cerris*

L.) leaves: diurnal cycles under different levels of water supply. *Plant, Cell and Environment* 18:631–640.

Wellburn AR (1994) The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal of Plant Physiology* 144:307–313.

Wingfield MJ, Brockerhoff EG, Wingfield BD, Slippers B (2015) Planted forest health: the need for a global strategy. *Science* 349(6250):832–836.

Yamauchi T, Colmer TD, Pedersen O, Nakazono M (2018) Regulation of root traits for internal aeration and tolerance to soil waterlogging-flooding stress. *Plant Physiology* 176:1118–1130.

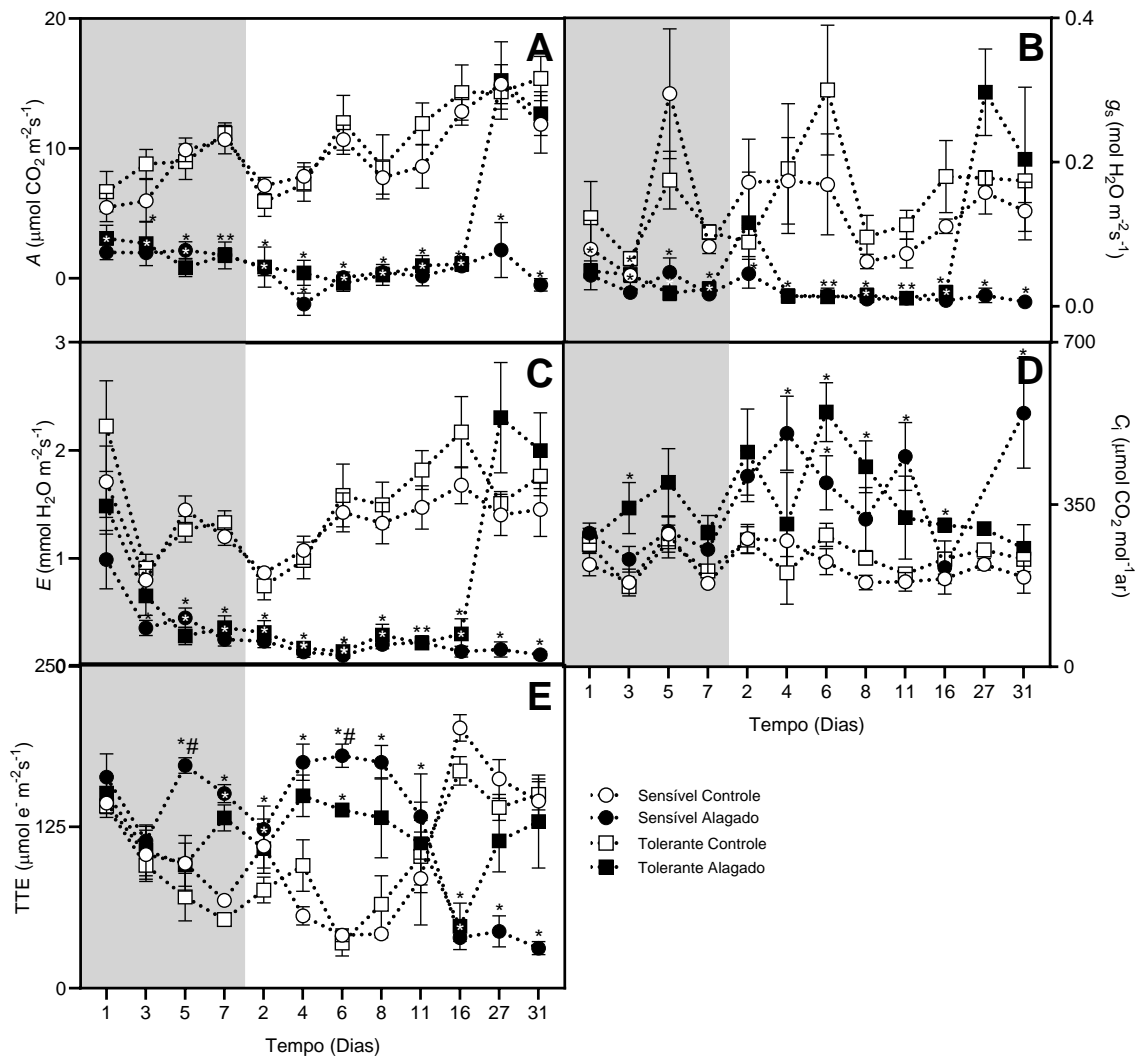
Yan, K, Zhao, S, Cui, M, Han, G, Wen, P (2018) Vulnerability of photosynthesis and photosystem I in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) exposed to waterlogging. *Plant Physiology and Biochemistry* 125:239-246.

Yemm EI, Ockling ECC (1955) The Determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst*, 80(948), 209-214.

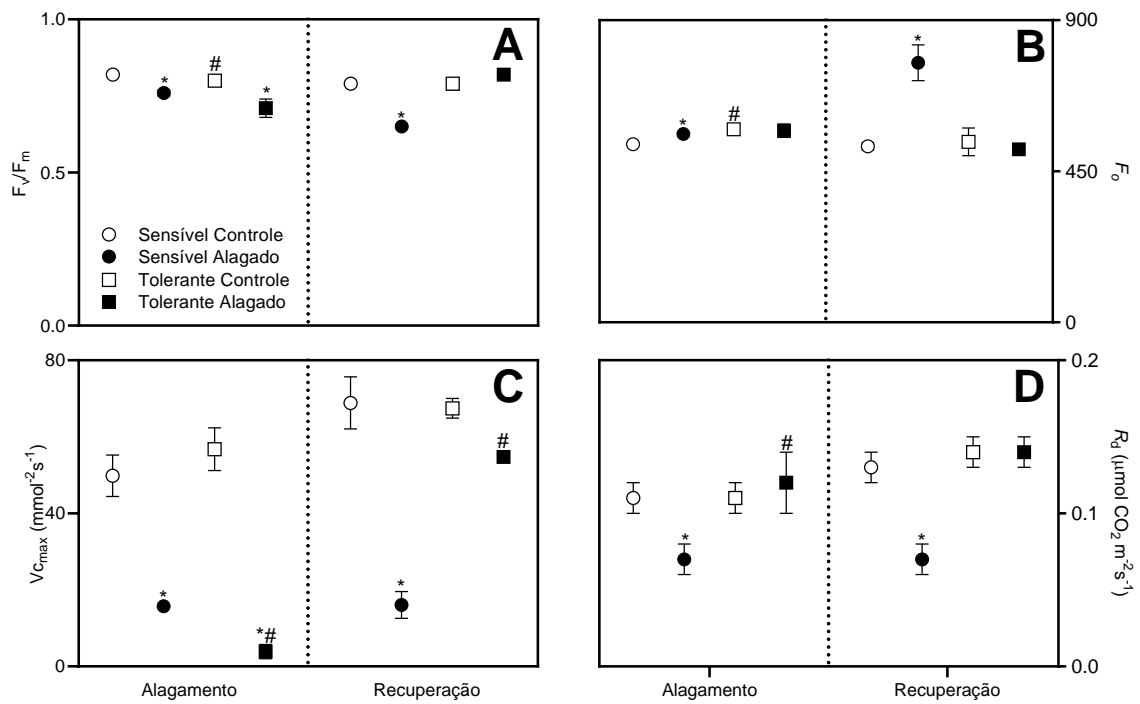
Zeng R, Chen T, Wang X, Cao J, Li X, Xu X, Chen L, Xia Q, Dong Y, Huang L, Wang L, Zhang J, Zhang L (2021) Physiological and Expressional Regulation on Photosynthesis, Starch and Sucrose Metabolism Response to Waterlogging Stress in Peanut. *Frontiers in Plant Science* 12

Zhang FP, Sussmilch F, Nichols DS, Cardoso AA, Brodribb TJ, McAdam SAM (2018) Leaves, not roots or floral tissue, are the main site of rapid, external pressure-induced ABA biosynthesis in angiosperms. *Journal of Experimental Botany* 69:1261–1267.

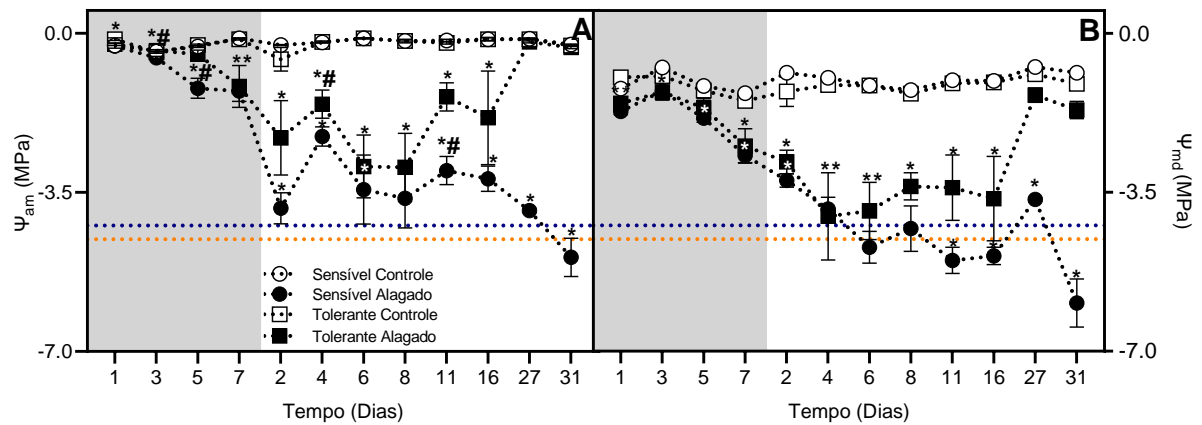
## 7. Figuras e Tabelas



**Figura 1.** Trocas gasosas de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, expostos (símbolos fechados) ou não (plantas-controle; símbolos abertos) a sete dias de alagamento (parte sombreada do gráfico) e 30 dias de reoxigenação pós-alagamento. A é taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  (A);  $g_s$  é a condutância estomática (B); E é a taxa transpiratória (C);  $C_i$  é a concentração interna de carbono (D) e TTE é a taxa de transporte de elétrons (E). Barras verticais denotam EP; quando não mostrado, o EP é menor que o tamanho dos símbolos. Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) dentro de um mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP ( $n = 2 - 6$ ).



**Figura 2.** Valores médios de parâmetros fluorescência da clorofila *a* e processos fisiológicos de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, após sete dias de exposição de alagamento (quadrante esquerdo) e após 30 dias de reoxigenação pós-alagamento (quadrante direito); plantas controle permaneceram sob capacidade de campo.  $F_v/F_m$  é a eficiência fotoquímica máxima do FSII (A);  $F_o$  é a fluorescência inicial (B);  $V_{cmax}$  é a velocidade máxima de carboxilação (C) e  $R_d$  é a respiração diurna (D). Barras verticais denotam EP; quando não mostrado, o EP é menor que o tamanho dos símbolos. Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) para o mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP ( $n = 2 - 6$ ).



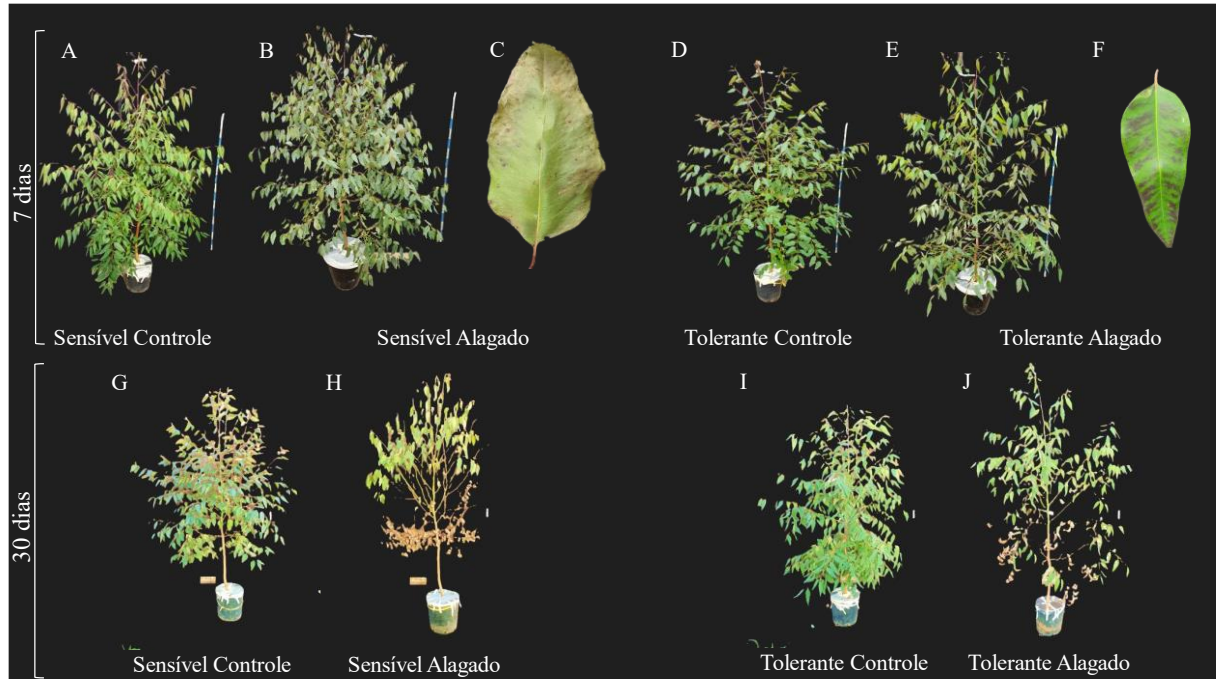
**Figura 3.** Potencial hídrico foliar antes do amanhecer ( $\Psi_{am}$ ) e ao meio-dia ( $\Psi_{md}$ ) de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, expostos (símbolos fechados) ou não (plantas controle; símbolos abertos) a sete dias de alagamento (parte sombreada do gráfico) e 30 dias de reoxigenação pós-alagamento. Barras verticais denotam EP; quando não mostrado, o EP é menor que o tamanho dos símbolos. Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) dentro de um mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP ( $n = 2 - 6$ ). As linhas horizontais tracejadas indicam o potencial hídrico foliar para 50% de área cumulativa de embolismo ( $P_{50}$ ), na cor azul para o clone sensível e na cor laranja para o clone tolerante.

**Tabela 1.** Potenciais hídricos foliares na antemanhã (am) e ao meio-dia (md) de partes diferentes da copa das plantas (terços inferior, médio e superior) de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento expostos a sete dias de alagamento; plantas-controle permaneceram sob capacidade de campo. As abreviações utilizadas são: SC = sensível controle, SA = sensível alagado, TC = tolerante controle, TA = tolerante alagado. Os valores são as médias das plantas no final da fase de alagamento (dia 7). Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) para o mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP (n = 4 – 6).

	SC	SA	TC	TA
<b>Superior am</b>	-0,20 $\pm$ 0,04	-1,08 $\pm$ 0,26*	-0,17 $\pm$ 0,03	-1,22 $\pm$ 0,52*
<b>Médio am</b>	-0,11 $\pm$ 0,01	-1,61 $\pm$ 0,09*	-0,13 $\pm$ 0,02	-0,45 $\pm$ 0,05*#
<b>Inferior am</b>	-0,36 $\pm$ 0,05	-3,19 $\pm$ 0,70*	-0,28 $\pm$ 0,05	-0,63 $\pm$ 0,09*#
<b>Superior md</b>	-1,30 $\pm$ 0,12	-2,80 $\pm$ 0,18*	-1,44 $\pm$ 0,08	-2,80 $\pm$ 0,38*
<b>Médio md</b>	-1,32 $\pm$ 0,06	-2,69 $\pm$ 0,16*	-1,49 $\pm$ 0,05#	-2,48 $\pm$ 0,38*
<b>Inferior md</b>	-1,37 $\pm$ 0,04	-3,84 $\pm$ 0,72*	-1,64 $\pm$ 0,04#	-3,16 $\pm$ 0,48*

**Tabela 2.** Médias da diferença entre potencial hídrico mínimo observado ( $\Psi_{\min}$ ; MPa) e potenciais hídricos (P; MPa) para 50% (MSH<sub>50</sub>) e 88% (MSH<sub>88</sub>) de área cumulativa de embolismo de partes diferentes das plantas (terço superior, médio e inferior) de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento expostos a sete dias de alagamento e 30 dias de reoxigenação pós-alagamento; plantas controle permaneceram sob capacidade de campo. Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) para o mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP (n = 4 – 6).

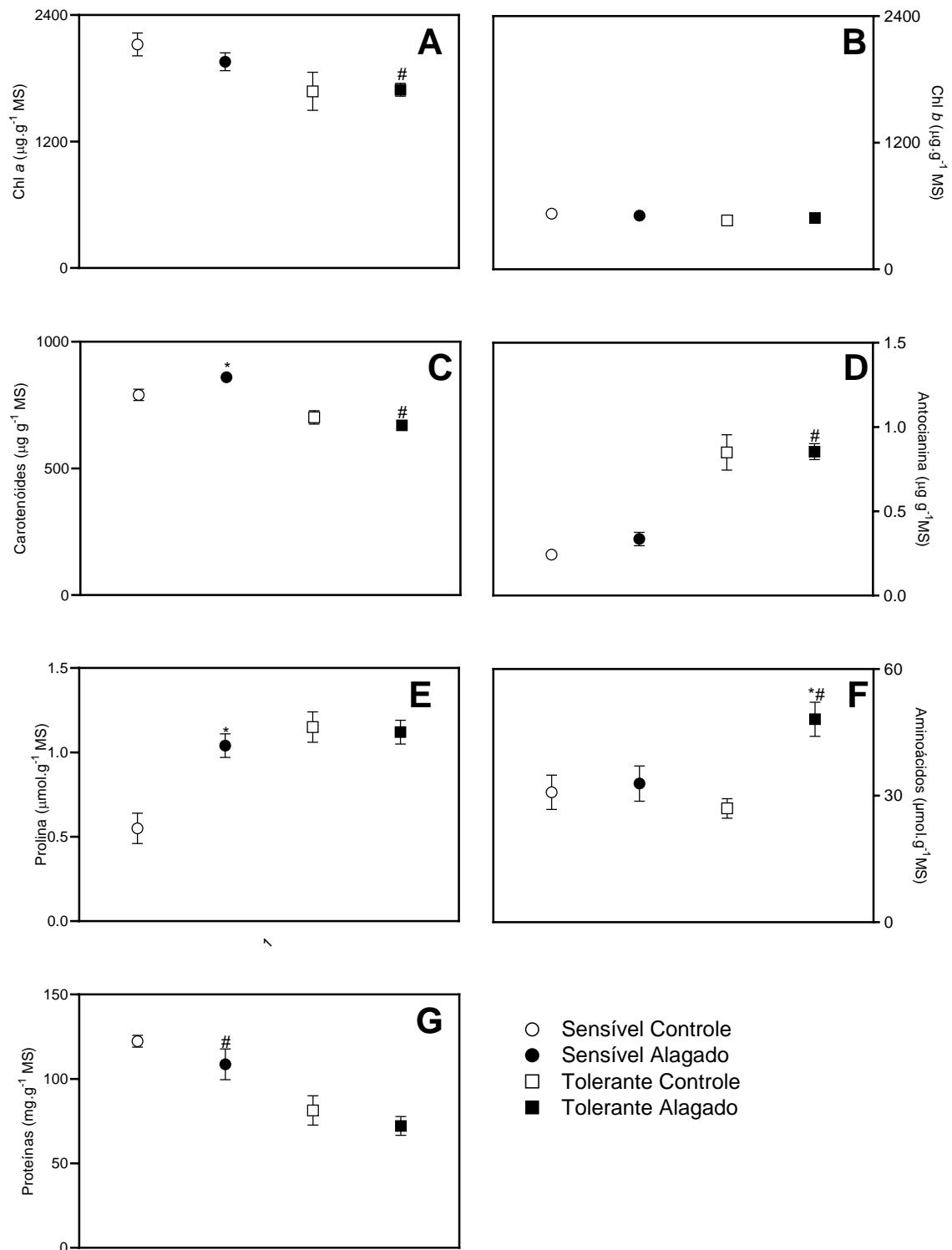
		MSH50			MSH88		
		Superior	Médio	Inferior	Superior	Médio	Inferior
Alagamento	SC	2.93 $\pm$ 0.20	2.88 $\pm$ 0.23	2.87 $\pm$ 0.26	3.55 $\pm$ 0.32	3.50 $\pm$ 0.36	3.49 $\pm$ 0.39
	SA	1.43 $\pm$ 0.17*	1.54 $\pm$ 0.20*	0.38 $\pm$ 0.54*	2.05 $\pm$ 0.27*	2.16 $\pm$ 0.30*	1.00 $\pm$ 0.40*
	TC	3.10 $\pm$ 0.29	3.05 $\pm$ 0.29	2.90 $\pm$ 0.28	4.00 $\pm$ 0.40	3.69 $\pm$ 0.38	3.80 $\pm$ 0.40
	TA	1.74 $\pm$ 0.36*	2.26 $\pm$ 0.24#	1.84 $\pm$ 0.20*#	2.64 $\pm$ 0.43*	2.61 $\pm$ 0.26*	2.49 $\pm$ 0.26*#
Recuperação	SC		2.92 $\pm$ 0.26			3.55 $\pm$ 0.39	
	SA		-1.57 $\pm$ 0.22*			-0.93 $\pm$ 0.50*	
	TC		3.32 $\pm$ 0.25			3.80 $\pm$ 0.56	
	TA		0.70 $\pm$ 0.27*#			0.84 $\pm$ 0.53*#	



**Figura 4.** Imagens de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento (CS – sensível e CT – tolerante) expostos a sete dias de alagamento e a 30 dias de reoxigenação pós-alagamento. Planta CS não alagada (A), planta CS alagada (B) por sete dias e uma folha (C) do terço médio de sua copa, planta CT não alagada (D), planta CT alagada (E) por sete dias e uma folha (F) do terço médio de sua copa, planta CS não alagada (G), planta CS alagada (H) após 30 dias de reoxigenação, planta CS não alagada (I) e planta CS alagada (J) após 30 dias de reoxigenação.

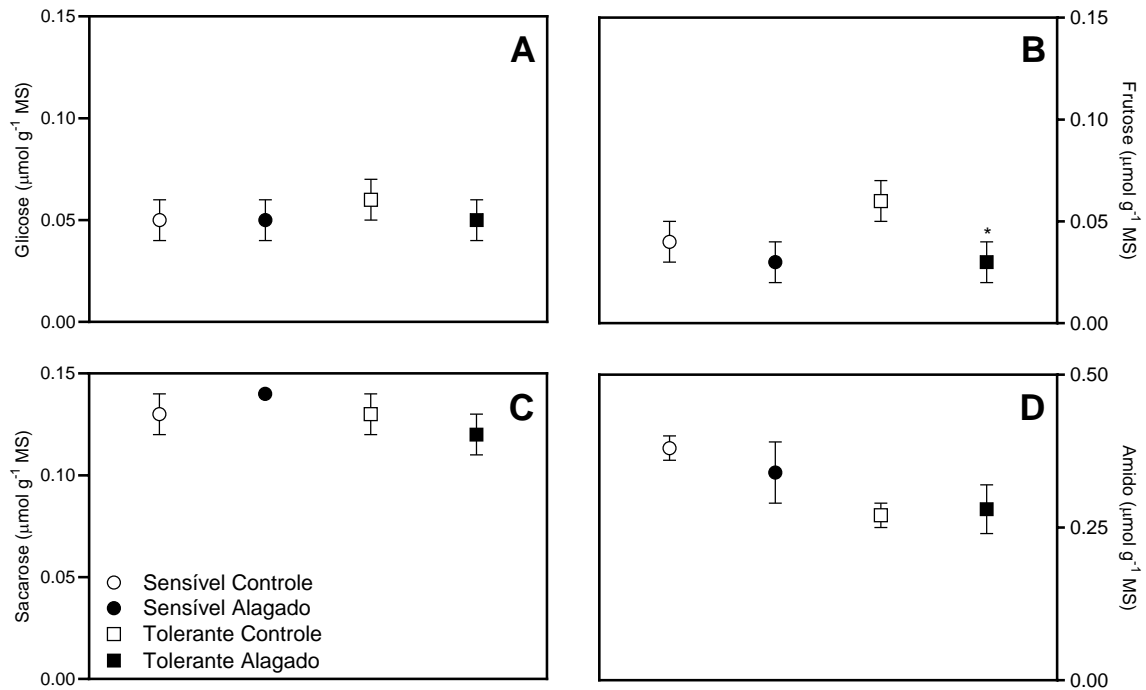
**Tabela 3.** Médias do potencial osmótico em turgescência plena ( $\Psi_{100}$ ; MPa), potencial hídrico no ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{PPT}$ ; MPa), teor relativo de água no ponto de perda de turgescência ( $TR_{PPT}$ ; %), módulo de elasticidade ( $\epsilon$ ; MPa), capacitância pré ( $C_{TP}^*$ ; mol m<sup>-2</sup> MPa<sup>-1</sup>), pós-perda de turgescência ( $C_{PPT}^*$ ; mol m<sup>-2</sup> MPa<sup>-1</sup>), médias dos potenciais hídricos (P; MPa) para 12%, 50% e 88% de área cumulativa de embolismo,  $g_{min}$  (condutância cuticular mínima) e médias do teor relativo de água responsável pelo percentual de perda da capacidade reidratação de 12, 50 e 88% ( $PPCR_{12}$ ,  $PPCR_{50}$ , e  $PPCR_{88}$ , respectivamente) em folhas de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento. Os dados foram obtidos em plantas antes da sua exposição ao alagamento. Asterisco (\*), quando exibido, representa diferença significativa (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os clones. Os dados são médias  $\pm$  EP (n = 6).

	<b>Sensível</b>	<b>Tolerante</b>
$\Psi_{100}$ (MPa)	-1,56 $\pm$ 0,07	-1,80 $\pm$ 0,07*
$\Psi_{PPT}$ (MPa)	-2,08 $\pm$ 0,09	-2,41 $\pm$ 0,08*
$TR_{PPT}$	87,29 $\pm$ 1,34	86,14 $\pm$ 0,96
$\epsilon$ (MPa)	13,92 $\pm$ 0,77	13,84 $\pm$ 0,75
$C_{TP}^*$ (mol m <sup>-2</sup> MPa <sup>-1</sup> )	0,43 $\pm$ 0,02	0,49 $\pm$ 0,02*
$C_{PPT}^*$ (mol m <sup>-2</sup> MPa <sup>-1</sup> )	0,62 $\pm$ 0,19	1,22 $\pm$ 0,10*
$P_{12}$	-3,94 $\pm$ 0,17	-4,32 $\pm$ 0,21
$P_{50}$	-4,23 $\pm$ 0,23	-4,54 $\pm$ 0,26
$P_{88}$	-4,85 $\pm$ 0,37	-5,44 $\pm$ 0,38
$g_{min}$	1,61 $\pm$ 0,10	1,51 $\pm$ 0,05
$PPCR_{12}$	72,59 $\pm$ 0,57	56,99 $\pm$ 2,80*
$PPCR_{50}$	43,84 $\pm$ 0,64	41,10 $\pm$ 0,79*

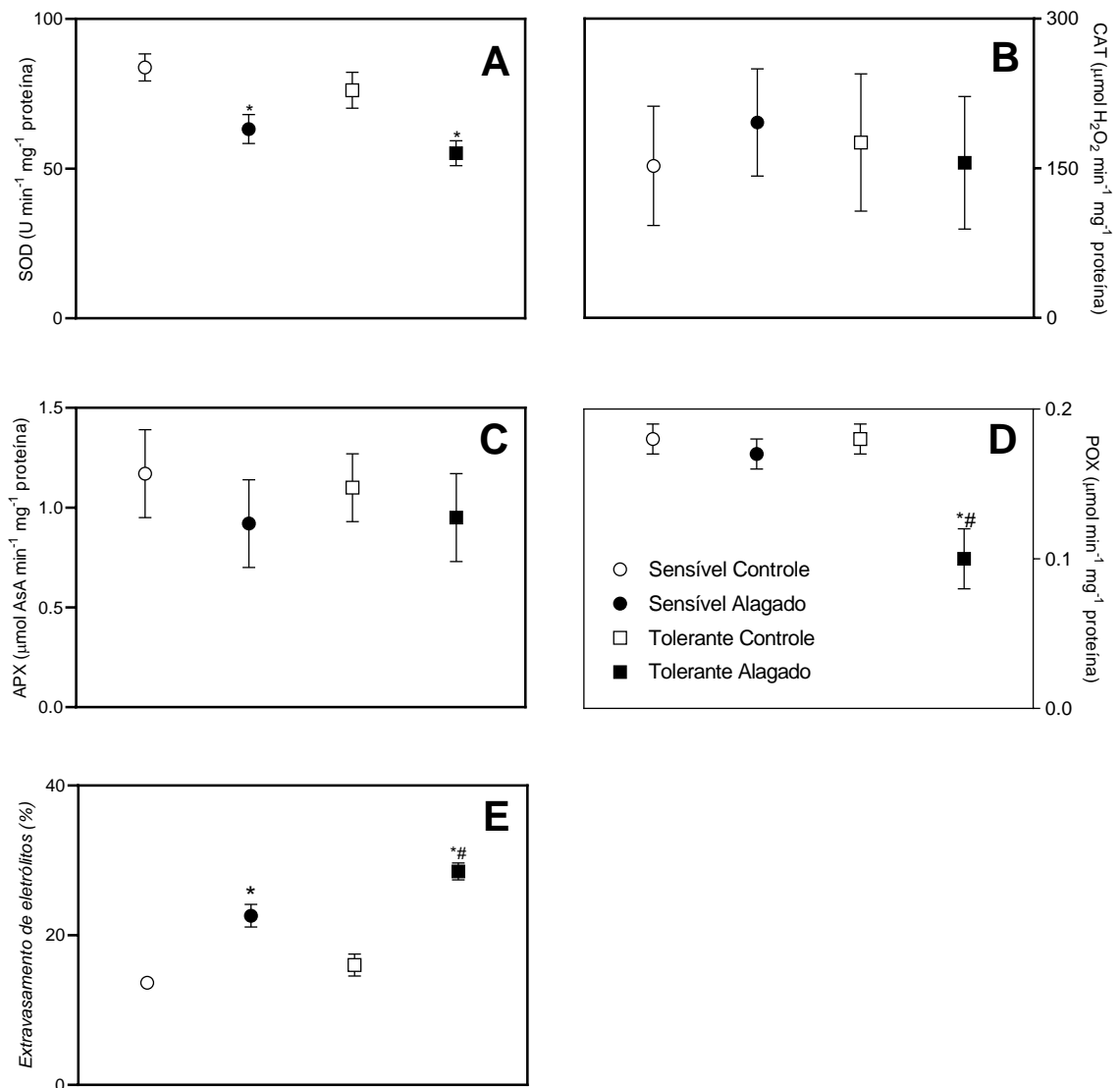


**Figura 5.** Clorofila *a* (A), clorofila *b* (B), concentração de carotenoides (C), concentração de aminoácidos totais (D), proteínas totais (E) e prolina (F) em folhas de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, sete dias após a imposição do estresse; plantas controle permaneceram sob capacidade de campo. Barras verticais denotam EP; quando não mostrado, o EP é menor que o tamanho dos símbolos. Símbolos, quando exibidos, representam

diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) para o mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP (n = 4 - 6).

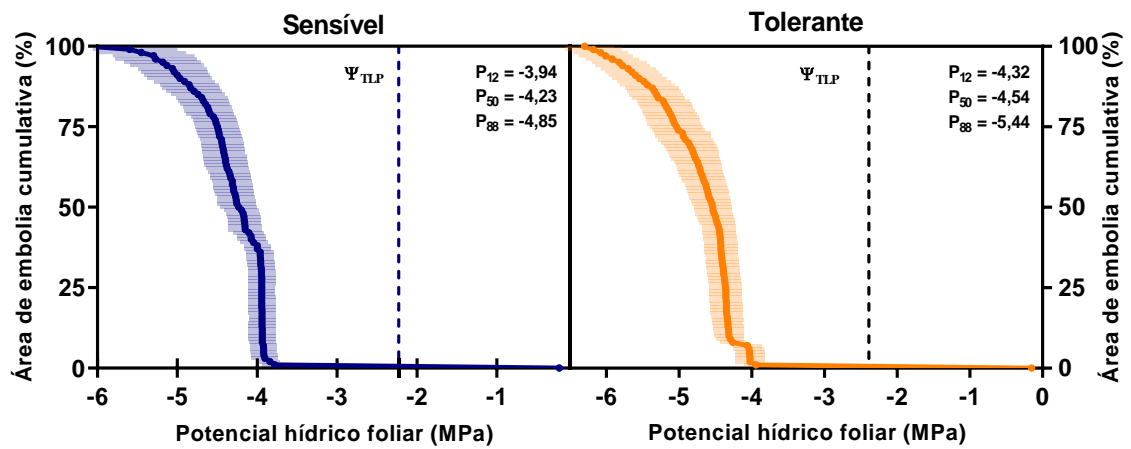


**Figura 6.** Concentração de glicose (A), frutose (B), sacarose (C) e amido (D) em folhas de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, sete dias após a imposição do estresse; plantas controle permaneceram sob capacidade de campo. Barras verticais denotam EP; quando não mostrado, o EP é menor que o tamanho dos símbolos. Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) para o mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e controle) para o mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP (n = 4 - 6).

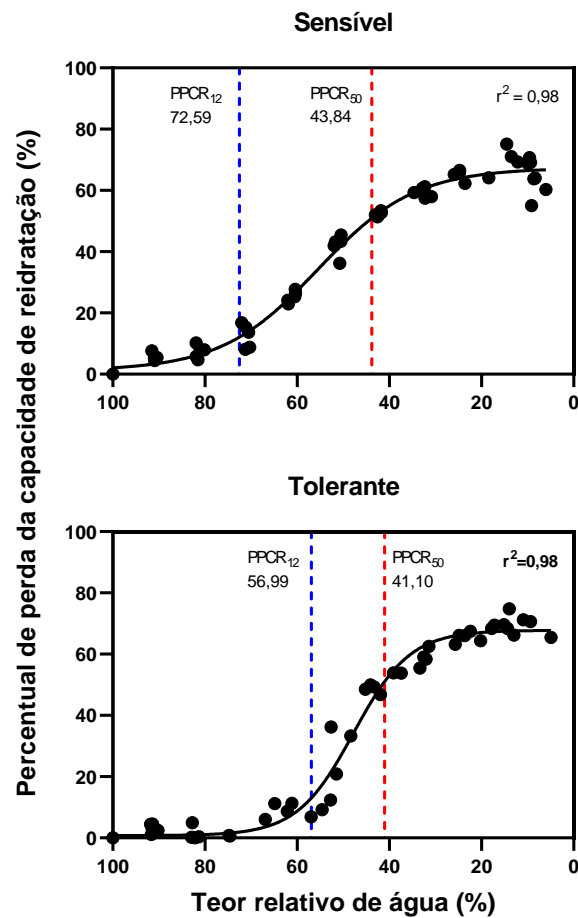


**Figura 7.** Atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), ascorbato peroxidase (APX) (C), peroxidases (POX) (D) e extravasamento de eletrólito foliar (E) em folhas de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, sete dias após a imposição do estresse; plantas-controle permaneceram sob capacidade de campo. Barras verticais denotam EP; quando não mostrado, o EP é menor que o tamanho dos símbolos. Símbolos, quando exibidos, representam diferenças significativas (teste t,  $P < 0,05$ ) entre os tratamentos (alagado e controle) dentro de um mesmo clone (\*) ou entre os clones (sensível e tolerante) dentro de um mesmo tratamento (#). Os dados são médias  $\pm$  EP (n = 4 - 6).

## Material Suplementar



**Figura S1.** Área cumulativa de embolismo (%) em folhas em processo de desidratação de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento. Os dados são médias  $\pm$  EP ( $n = 6$ ). As linhas verticais tracejadas indicam o potencial hídrico foliar para o ponto de perda de turgescência ( $\Psi_{PPT}$ ).



**Figura S2.** Perda de capacidade de reidratação (PPCR) em folhas em processo de desidratação de dois clones de *Eucalyptus* spp. com tolerância diferencial ao alagamento, ou seja, sensível (CNB004) e tolerante (CNB016). Os pontos pretos representam dados obtidos a partir de folhas individuais e a linha preta, o melhor modelo ajustado. As linhas verticais tracejadas indicam o teor relativo de água de  $PPCR_{12}$  (linha azul) e  $PPCR_{50}$  (linha vermelha).