



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
ÁREA: PRODUÇÃO VEGETAL



JAILMA RIBEIRO DE ANDRADE

TESE DE DOUTORADO

**BIOQUÍMICA E ECOFISIOLOGIA DE CLONES DE *Eucalyptus* SUBMETIDOS  
À SALINIDADE DO SOLO NA FASE INICIAL DE CRESCIMENTO**

RIO LARGO-AL

2019

JAILMA RIBEIRO DE ANDRADE

**BIOQUÍMICA E ECOFISIOLOGIA DE CLONES DE *Eucalyptus* SUBMETIDOS  
À SALINIDADE DO SOLO NA FASE INICIAL DE CRESCIMENTO**

Tese apresentada à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia: Produção Vegetal, CECA/UFAL, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Agronomia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Vilma Marques Ferreira  
Coorientador: Prof. Dr. Laurício Endres

RIO LARGO-AL

2019

Catálogo na fonte  
Universidade Federal de Alagoas  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias  
Bibliotecário: Erisson Rodrigues de Santana

A553b Andrade, Jailma Ribeiro de.

Bioquímica e ecofisiologia de clones de *Eucalyptus* submetidos à salinidade do solo na fase inicial de crescimento. Rio Largo-AL – 2019.  
99 f.; il; 33 cm

TESE (Tese de Doutorado – Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia. Rio Largo, 2019.

Orientadora: Profa. Dra. Vilma Marques Ferreira.  
Coorientador: Prof. Dr. Laurício Endres

1. Eucalipto. 2. Estresse salino. 3. Enzimas antioxidantes. 4. Ajuste osmótico 5. Trocas gasosas I. Título.

CDU: 630\*2

TERMO DE APROVAÇÃO

JAILMA RIBEIRO DE ANDRADE  
(Matrícula 15140052)

**"BIOQUÍMICA E ECOFISIOLOGIA DE CLONES DE *Eucalyptus* SUBMETIDOS À  
SALINIDADE NA FASE INICIAL DE CRESCIMENTO"**

Tese apresentada e avaliada pela banca examinadora em vinte e cinco de março de 2019, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.



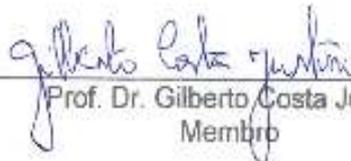
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vilma Marques Ferreira  
Presidente



Prof. Dr. Ronaldo do Nascimento  
Membro



Prof. Dr. José Vieira Silva  
Membro



Prof. Dr. Gilberto Costa Justino  
Membro

Rio Largo - AL  
Março-2019

*Aos meus amados pais, Francisco e Rita, que estiveram sempre ao meu  
lado me dando todo o apoio necessário;  
Ao meu querido irmão, José;  
Aos meus queridos sobrinhos, João Carlos e Mayla;  
Ao meu amado esposo Sebastião Júnior, por todo amor, dedicação e  
companheirismo de sempre;  
A todos os tios, primos e amigos;  
Enfim, a todos que foram fonte de apoio e inspiração para chegar até aqui.  
Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela dádiva da vida, por todas as bênçãos, força, sabedoria e perseverança para superar as adversidades.

A minha família, em especial aos meus pais Rita e Francisco, meu irmão José e meus sobrinhos Mayla e João Carlos, por acreditarem na minha determinação.

Ao meu esposo, colega de equipe, amigo e companheiro, Sebastião Júnior, por todo amor, apoio, compreensão e dedicação sempre.

À Universidade Federal de Alagoas, pela oportunidade de realização do curso.

A Coordenação de pessoal de Ensino Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL), pelo auxílio financeiro para a condução do experimento.

Ao Laboratório de Fisiologia Vegetal, o qual foi a minha segunda casa durante o doutorado.

Ao laboratório de propagação de plantas, no qual também convivi bom tempo durante o curso, principalmente nos momentos de aulas práticas.

A minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Vilma Marques Ferreira, pela brilhante orientação, pelos conselhos, carinho, apoio, paciência e amizade. A qual sinto um carinho enorme e a tenho como exemplo de vida, tanto profissional quanto pessoal.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Laurício Endres, pela atenção, dedicação, acolhimento e ensinamentos.

As grandes amigas que o doutorado me deu, Julyane Moura, Andrea Francisca e Gleica. Por todas as conversas, risadas e fofocas. Amigas que levarei pra vida toda!

A pós-doc Claudiana Moura, por todas as conversas sejam elas científicas ou não (rsrsrsr) e por todo apoio durante esse tempo que estive no curso. Uma amiga que o doutorado me deu.

A mestranda Andrea e aos ICs e colaboradores Vicente Mota, Karolyne Priscila, Lucas Teles, Jônatas Rodrigo, Kamillah Millena, Nixson e Ludimila que muito me ajudaram na implantação, condução do experimento e análises laboratoriais. Em especial a Andrea que sempre esteve comigo nesses momentos de labuta.

Aos demais colegas de laboratório, Dona Fátima, Dilliane, Poly, Paulo, Jônatas, Lenon, Julhyanne Christiny, André, Adenilton, Elenilton, Rafael, Joyce, João, Carlos, Juliana, Jayne, Carol, Lila, Artur, Nataliana. Enfim, a todos que aguentaram as minhas chatices durante esses anos de convívio (rsrsrsrs), com os quais compartilhei bons momentos.

A técnica do laboratório de Fisiologia Vegetal, Isabela Cardoso, por todas as contribuições nas análises bioquímicas, e por todo auxílio prestado durante esse tempo em que estive no Laboratório.

Ao pessoal do laboratório de propagação de plantas, Prof. Dr. João Correia, Inajal, Luan, Luciano e Priscila, os quais também fizeram parte do meu convívio durante essa jornada.

Aos amigos de morada, Baiano, Aldair e Luciene, pela convivência durante o curso.

Aos colegas de curso, mestrandos e doutorandos, que compartilharam comigo todas as alegrias e sofrimentos durante as disciplinas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia do CECA/UFAL, em especial àqueles com quem tive maior tempo de convívio.

Aos professores que fizeram parte da banca examinadora, Prof<sup>o</sup>. Dr. Ronaldo do Nascimento, Prof<sup>o</sup>. Dr. José Vieira Silva e Prof<sup>o</sup>. Dr. Gilberto Costa Justino pela excelente avaliação e dicas.

Aos funcionários da Pós-graduação, Gustavo, Marcos, Maxwell, e Geraldo Lima, por toda atenção e prestatividade. Em especial ao Gustavo, por toda gentileza que tem em ajudar o próximo, sem falar nas infinitas caronas. Um dos melhores funcionários da UFAL.

A Micheline e Karol, pelas divertidas conversas e caronas até a UFAL.

Ao pessoal da limpeza dona Ciça, Carla e Simone, por manter o nosso ambiente de trabalho sempre limpo.

Ao Sr. Agnêsio, por ter me aguentado quase todos os dias solicitando algo para o experimento (rsrsrsrs), e a disposição em acatar as solicitações.

Aos amigos que conquistei durante essa jornada no CECA/UFAL, e a todos que direta ou indiretamente participaram da minha vida durante o doutorado.

**...Muito Obrigada!**

***“Não haverá borboletas se a vida  
não passar por longas e silenciosas  
metamorfoses.”***

***(Rubem Alves)***

## RESUMO

O gênero *Eucalyptus* vem sendo plantado há décadas no Brasil, e seu cultivo tem se expandido, tanto mundialmente quanto nacionalmente. Contudo vem crescendo o número de áreas com presença de solos salinos, muitas vezes utilizados para o cultivo de árvores florestais, como as do gênero. Neste contexto, em decorrência da presença de sais, os potenciais osmótico e hídrico do solo são reduzidos, inibindo o crescimento e desenvolvimento das plantas, além de provocar toxicidade iônica e desequilíbrios nutricionais. Portanto, diante do exposto, objetivou-se avaliar o desempenho fotossintético, acúmulo de íons, atividade do sistema antioxidante e crescimento de clones de eucalipto visando identificar sua tolerância às condições de salinidade do solo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial  $3 \times 4$ , sendo três clones de *Eucalyptus*: VC865, I224 e I144, e quatro concentrações de NaCl (0, 1, 2 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo), com cinco repetições, totalizando 60 parcelas. Aos 30 e 60 dias pós o transplântio foram avaliadas a altura de plantas, diâmetro do caule, número de folhas, trocas gasosas, potencial hídrico, eficiência fotoquímica do fotossistema II e índice SPAD. Aos 60 dias também foram avaliadas a área foliar, massa seca das diferentes partes da planta, pigmentos fotossintéticos, enzimas antioxidantes e prolina. O clone I144 apresenta mecanismos de tolerância à salinidade do solo, como menor redução da condutância estomática, transpiração, fotossíntese, eficiência fotoquímica do PSII, teores de pigmentos fotossintéticos, massas secas de folha, caule e total, potencial hídrico foliar e concentração de potássio. Além disso, teve menor potencial osmótico associado ao aumento de sódio e prolina e baixa relação  $Na^+/K^+$ , indicando maior ajuste osmótico. Esse clone também apresentou maior atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, e menores conteúdos de peróxido de hidrogênio e MDA. Com bases nos mecanismos fisiológicos, bioquímicos, nos índices de incremento relativo e de tolerância avaliados quanto à salinidade do solo, os clones se classificaram na seguinte ordem de tolerância: I144 > VC865 > I224.

**Palavras-chave:** Eucalipto, Estresse salino, ajuste osmótico, trocas gasosas, crescimento, Enzimas antioxidantes.

## ABSTRACT

The genus *Eucalyptus* has been planted for decades in Brazil, and its cultivation has expanded, both globally and nationally. However, the number of areas with presence of saline soils, often used for the cultivation of forest trees, such as those of the genus, has increased. In this context, due to the presence of salts, the osmotic and water potentials of the soil are reduced, inhibiting plant growth and development, as well as causing ionic toxicity and nutritional imbalances. In view of the above, the objective was to evaluate the photosynthetic performance, ion accumulation, antioxidant system activity and growth of *Eucalyptus* clones in order to identify their tolerance to soil salinity conditions. The experimental design was a randomized block design in a 3 × 4 factorial scheme, with three *Eucalyptus* clones: VC865, I224 and I144, and four concentrations of NaCl (0, 1, 2 and 3 g kg<sup>-1</sup> soil NaCl), with five replications, totaling 60 plots. The clone I144 shows soil salinity tolerance mechanisms, such as reduction of stomatal conductance, transpiration, photosynthesis, photochemical efficiency of PSII, photosynthetic pigment contents, dry leaves, stem and total mass, leaf water potential and potassium concentration. In addition, it had lower osmotic potential associated with increased sodium and proline and low Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup> ratio, indicating a higher osmotic adjustment. This clone also showed higher activity of the antioxidant enzymes SOD, APX and CAT, and lower contents of hydrogen peroxide and MDA. Based on the physiological and biochemical mechanisms, in the indexes of relative increase and tolerance evaluated for soil salinity, the clones were classified in the following order of tolerance: I144 > VC865 > I224.

**Key words:** *Eucalyptus*, Saline stress, osmotic adjustment, gas exchange, growth, Antioxidant enzymes, tolerance.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO II

- Figura 1. Temperaturas máxima, média e mínima do ar, Umidade relativa média do ar (A), Radiação média incidente e Déficit de pressão de vapor do ar (B) durante o período de estresse salino. .... 29
- Figura 2. Temperatura foliar – T folha (A e B) e Déficit de pressão folha-ar - DPV(folha-ar) (C e D) aos 30 e 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 31
- Figura 3. Condutância estomática - gs (A e B) e transpiração - E (C e D) aos 30 e 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 33
- Figura 4. Concentração interna de CO<sub>2</sub> - Ci (A e B), fotossíntese - A (C e D) e Eficiência de carboxilação - EiC (E e F) aos 30 e 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 35
- Figura 5. Eficiência fotoquímica máxima do PSII - Fv/Fm, ao amanhecer (A e B) e ao meio-dia (C e D) e índice relativo de clorofila - SPAD (E e F) aos 30 e 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 37
- Figura 6. Clorofila a (A), b (B), total (C) e carotenoides (D) aos 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 39
- Figura 7. Massa seca total aos 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 40
- Figura 8. Análise de componentes principais aplicada em três clones de eucalipto: VC865 (C1), I224 (C2) e I144 (C3) submetidos a quatro salinidades do solo: 0 (S1), 1 (S2), 2 (S3) e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo (S4), medidas em duas épocas: 30 (A, B) e 60 dias após o transplântio. PC1 e PC2 representam a projeção das variáveis (A, C) e a distribuição dos tratamentos (B, D). Variáveis: Temperatura da folha (Tf), Déficit de pressão de vapor (DPV), Concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci), Fotossíntese (A),

Transpiração (E), Condutância estomática (gs), Eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), Índice SPAD, Eficiência fotoquímica máxima do PSII ao amanhecer (Fv/Fm PD) e meio-dia (Fv/Fm MD), clorofilas a (Chl a), b (Chl b) e total (Chl total), carotenoides (Carot) e massa seca total (MST). ..... 41

### CAPÍTULO III

Figura 1. Temperaturas máxima, média e mínima do ar, Umidade relativa média do ar (A), Radiação média incidente e Déficit de pressão de vapor do ar (B) durante o período de estresse salino. .... 55

Figura 2. Potenciais hídricos ao amanhecer –  $\Psi_w$  PD (A) e meio-dia –  $\Psi_w$  MD (B) e potencial osmótico –  $\Psi_s$  ao meio dia (C) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 59

Figura 3. Teores de  $\text{Na}^+$  (A) e  $\text{K}^+$  (B), relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (C) e Prolina (D) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 60

Figura 4. Atividade das enzimas superóxido dismutase – SOD (A), ascorbato peroxidase – APX (B) e catalase – CAT (C), peróxido de hidrogênio -  $\text{H}_2\text{O}_2$  (D) e conteúdo de malondialdeído – MDA (E) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do ..... 64

Figura 5. Incremento relativo da altura de planta – IR-AP (A) do diâmetro do caule – IR-DC (B) e do número de folhas – IR-NF (C), e área foliar - AF (D) em clones de eucalipto cultivados sob diferentes concentrações de salinidade do solo. .... 65

Figura 6. Índices de tolerância das folhas – ITF (A), do caule – ITC (B), da raiz – ITR (C) e total - ITT (D) em clones de eucalipto cultivados sob diferentes concentrações de salinidade do solo. .... 67

Figura 7. Massas secas de folha – MSF (A), caule – MSC (B) e raiz – MSR (C) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 68

Figura 8. Análise de componentes principais aplicada em três clones de eucalipto: VC865 (C1), I224 (C2) e I144 (C3) submetidos a quatro salinidades do solo: 0 (S1), 1

(S2), 2 (S3) e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo (S4). PC1 e PC2 representam a projeção das variáveis (A) e a distribuição dos tratamentos (B). Potencial hídrico ao amanhecer ( $\Psi_w$  PD) e meio-dia ( $\Psi_w$  MD), e osmótico ( $\Psi_s$ ), Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, prolina, SOD, APX, CAT, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MDA, MSR, MSC, MSF, IR-AP, IR-DC, IR-NF, AF e ITT..... 69

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Propriedades químicas e físicas do solo utilizado no experimento. .... 28

**Tabela 2.** Correlação de Pearson entre características fisiológicas aos 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes salinidades do solo. .... 32

### Capítulo III

**Tabela 1.** Propriedades químicas e físicas do solo utilizado no experimento. .... 54

**Tabela 2.** Correlação de Pearson entre o potencial hídrico ao meio dia ( $\Psi_w$  MD), potencial osmótico ( $\Psi_s$ ), teores de  $K^+$  e  $Na^+$ , relação  $Na^+/K^+$ , ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), teor de malondialdeído (MDA), teor de prolina, Incrementos relativos de altura de planta (IR-AP), diâmetro do caule (IR-DC) e número de folhas (IR-NF), área foliar (AF), índices de tolerância de folhas (ITF), caule (ITC), raiz (ITR) e total (ITT) e massas secas de folha (MSF), caule (MSC) e raiz (MSR) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo. .... 61

## LISTA DE APÊNDICES

**Apêndice 1.** mudas de Eucalipto com 120 dias transplantadas dos tubetes para os sacos plásticos..... 82

**Apêndice 2.** Clones de Eucalipto com 10 (A) e (60) dias após o transplântio para os vasos. .... 82

**Apêndice 3.** Alguns registros das coletas de dados. Coleta de folhas para as análises bioquímicas (A), avaliação do índice SPAD (B), medidor de área foliar (C), medições de trocas gasosas com o Irga (D e E)..... 83

**Apêndice 4.** Análises bioquímicas: maceração (A), extrato obtido, antes da centrifugação (B), pipetagem do extrato após a centrifugação (C) e extrato em meio de reação (D)..... 84

**Apêndice 5.** Clones de eucalipto sob os quatro diferentes níveis de salinidade do solo: VC865 (A), I224 (B) e I144 (C) aos 60 dias após o transplântio. .... 85

## Sumário

CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. O <i>Eucalyptus</i> .....	3
2.2. Salinidade do solo .....	4
2.3. Efeitos da salinidade nas plantas .....	5
2.3.1. Sódio (Na <sup>+</sup> ) e Potássio (K <sup>+</sup> ).....	5
2.3.2. Crescimento e produção de biomassa.....	7
2.3.3. Relações hídricas e trocas gasosas.....	8
2.3.4. Florescência da clorofila e pigmentos fotossintetizantes .....	9
2.3.5. Espécies reativas de oxigênio e sistema antioxidante .....	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	12
CAPÍTULO II.....	25
RESUMO.....	25
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3. RESULTADOS .....	30
4. DISCUSSÃO.....	42
5. CONCLUSÃO.....	45
6. REFERÊNCIAS .....	45
CAPÍTULO III .....	51
RESUMO.....	51
1. INTRODUÇÃO.....	51
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3. RESULTADOS .....	58
4. DISCUSSÃO.....	69
5. CONCLUSÃO.....	75
6. REFERÊNCIAS .....	75
APÊNDICES .....	82

## CAPÍTULO I

### 1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae, é originário da Austrália e possui mais de 800 espécies. Dentre estas, mais de 30 possuem valor econômico em diferentes áreas (FLORES et al., 2016). O cultivo do eucalipto tem se expandido tanto mundial quanto nacionalmente, sendo plantado há décadas no Brasil (NEVES et al., 2013), ocupando uma extensão de 5,7 milhões de hectares no País (IBÁ, 2017).

As espécies e híbridos do eucalipto apresentam alta produtividade, elevado rendimento e boa adaptação a diferentes condições ambientais, o que as torna importante para o crescimento de áreas com espécies florestais para fins comerciais (BARRETO et al., 2007; TONELLO; TEIXEIRA FILHO 2011; SILVA et al., 2014). Fato este que faz com que o eucalipto se apresente como uma excelente alternativa econômica no nordeste e especificamente no estado de Alagoas, tendo em vista a possibilidade de utilização de área degradada para o seu cultivo.

Em Alagoas o cultivo do eucalipto vem substituindo a cana-de-açúcar em áreas de encostas, devido à introdução da colheita mecanizada para esta cultura, o que tem se mostrado como uma prática de difícil execução nestas áreas. Nesse seguimento o eucalipto surge no estado como opção para geração de energia, bem como utilização em serraria. Portanto, em razão de a cultura estar se expandindo em regiões não tradicionais de cultivo, seu desenvolvimento pode sofrer impacto de fatores climáticos adversos, sendo a salinidade um dos mais importantes.

A salinização de áreas na maioria das vezes é em decorrência da escassez de recursos hídricos de boa qualidade para a agricultura, levando muitos produtores a utilizar águas impróprias para a irrigação, contendo concentração de sais acima do ideal (DIAS et al., 2016), sendo essas áreas comumente usadas para o plantio de espécies florestais.

A presença de sais no solo reduz os potenciais osmóticos e hídricos do mesmo, inibindo o crescimento e desenvolvimento das plantas, além de provocar toxicidade iônica e desequilíbrios nutricionais (MUNNS; TESTER, 2008; SÁ et al., 2015). Com isso há um aumento na concentração de  $\text{Na}^+$  na planta e como consequência há a redução de  $\text{K}^+$  (MAGGIO et al., 2007; PATTERSON et al., 2009), em função da

competição entre  $\text{Na}^+$  e o  $\text{K}^+$  pelos mesmo sítios de absorção na membrana plasmática (DEINLEIN et al., 2014; BERTAZZINI et al., 2018).

A salinidade irá ocasionar mudanças na morfologia, na bioquímica e na fisiologia dos vegetais e, conseqüentemente no rendimento (PRISCO; GOMES FILHO, 2010; SÁ et al., 2015). Em condições de déficit hídrico as plantas fecham seus estômatos a fim de minimizar a perda de água através da transpiração (MEDEIROS et al., 2013; BRITO et al., 2018). A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II é prejudicada, e o crescimento e a capacidade fotossintética das plantas são reduzidos (SENGAR et al., 2013, KUMAR et al., 2014). Em função da relação existente entre condutância estomática, transpiração e fotossíntese, ocorre restrição da entrada de  $\text{CO}_2$  (PINHEIRO et al., 2008; BRITO et al., 2018).

O acúmulo de sais no solo também provoca o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células vegetais, como o radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), o radical hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) (GUPTA; HUANG 2014; KUMAR et al., 2018), levando ao estresse oxidativo e causando danos no metabolismo das plantas, como oxidação de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (ROSSATTO et al., 2017). Contudo, as plantas possuem um complexo sistema antioxidante cuja função é proteger as células dos danos causados pelas EROs (ROSSATTO et al., 2017), através da atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), reduzindo a concentração de peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica (SILVEIRA et al., 2010; AHMAD, 2014; CHEN et al., 2016).

Na condição de salinidade, como tentativa de sofrer menos danos, ocasionado pelo estresse, às plantas também podem se ajustar osmoticamente, como através do acúmulo de prolina. Há evidências de que esse osmólito ajuda no ajuste osmótico e na proteção de algumas estruturas celulares quando a planta é exposta a condições salinas (AHMED et al., 2012, IQBAL et al., 2014), estando o seu aumento relacionado a tolerância das plantas ao estresse (WANI et al., 2013). Dessa forma, a tolerância de uma espécie vegetal à salinidade é fator crucial para o seu sucesso em fornecer benefícios ambientais e econômicos quando cultivada em condições de solo salino (CAVALCANTE et al., 2018). No entanto, a tolerância pode ser bastante variável dentro da mesma espécie, tornando necessário pesquisas com diferentes materiais genéticos, frente a condições estressantes.

Sendo assim, estudos envolvendo o crescimento, comportamento fisiológico e bioquímico em clones de eucalipto sob condições de salinidade, podem fornecer informações básicas sobre o potencial de cada um, de modo que seja possível inferir qual material genético melhor se adapta a essas condições. Além disso, estas informações nos permite definir estratégias de manejo para minimizar condições de estresse em espécies florestais, bem como selecionar materiais tolerantes à salinidade em programas de melhoramento.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho fotossintético, acúmulo de íons, atividade do sistema antioxidante e crescimento de clones de eucalipto visando identificar sua tolerância às condições de salinidade do solo.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### ***2.1. O Eucalyptus***

O *Eucalyptus* foi introduzido no Brasil em 1825, onde a partir de 1903 passou a ser empregado economicamente na produção de dormentes ferroviários e lenha para locomotivas, substituindo a madeira das florestas nativas, sendo posteriormente empregado na indústria de celulose e papel, e na produção de carvão vegetal (DOSSA et al., 2010).

Este gênero, pertence à família das Myrtaceas, tem sua origem na Austrália, sendo de fácil adaptação edafoclimática (GOLDEMBERG, 2009). Por possuir espécies altamente produtivas e características energéticas, o eucalipto vem ganhando destaque na produção de matéria prima florestal de elevado rendimento e rápido crescimento, tendo diversas utilizações (TONELLO; TEIXEIRA-FILHO, 2011). Além disso, exerce importante papel sobre a redução do desmatamento de florestas nativas (FONSECA et al., 2010; VIERA et al., 2012).

As espécies do gênero *Eucalyptus* são capazes de se adaptarem as diversas condições edafoclimáticas em consequência da sua grande flexibilidade ecológica, conferindo ao gênero uma ampla distribuição e uma elevada expressividade mundial (MACEDO et al., 2014).

A área plantada com árvores no Brasil atingiu no ano de 2016 um valor de 7,84 milhões de hectares, mostrando um crescimento de 0,5% em relação ao ano de 2015,

exclusivamente em função do aumento das áreas com eucalipto. Desta área plantada o eucalipto ocupa em torno de 5,7 milhões de hectares (IBA, 2017).

Objetivando algumas características da madeira como maior densidade e baixos teores extrativos, surge a necessidade de se obter florestas cada vez mais produtivas, levando as empresas brasileiras a investir cada vez mais em programas de melhoramento genético e técnicas que facilitem uma maior homogeneidade da matéria prima, melhorando a qualidade final do produto (TONINI et al., 2006). Nesse contexto grande parte dos plantios de espécies florestais utilizam clones, que geralmente são desenvolvidos para serem tolerantes às doenças ou adversidades climáticas, além de apresentarem rápido crescimento e excelente qualidade de madeira (BENATTI, 2013).

Os ambientes reservados às plantações florestais são, geralmente, de baixa fertilidade natural ou áreas com histórico de uso inadequado da terra, com desmatamento e emprego de técnicas impróprias de manejo agropecuário (GONÇALVES, 2002). Pesquisas relacionadas aos mecanismos fisiológicos das plantas, que são responsáveis por regular o crescimento das mesmas, ainda são escassas (STAPE et al., 2004), fazendo-se necessário o estudo da interação entre planta e ambiente para se determinar as estratégias e seleção de genótipos (OTTO et al., 2013).

## **2.2. Salinidade do solo**

O termo salinidade é empregado como indicador do processo de acúmulo de sais solúveis no solo ou no ambiente radicular onde as plantas estão crescendo e na maioria das ocasiões são prejudiciais ao desenvolvimento das plantas do local (PRISCO, 1980; WILLADINO; CAMARA, 2004; RIBEIRO, 2010).

A salinização do solo é uma preocupação mundial que envolve não só as regiões áridas e semiáridas que são naturalmente salinizadas, mas também as terras irrigadas onde a água incorpora sais no solo (ASHRAF et al., 2008), e atualmente cerca de 45 milhões de hectares de terras irrigadas são afetadas pela salinidade e com grandes possibilidades de que este número aumente devido às mudanças climáticas globais e o uso incorreto da irrigação (MUNNS; TESTER, 2008; RENGASAMY, 2010; ROY et al., 2014).

No Brasil cresce o número de áreas com solos afetados por sais, principalmente no nordeste brasileiro, por ser uma região caracteristicamente semiárida, onde o manejo inadequado da irrigação e a qualidade da água, aliado à alta evapotranspiração da

cultura, contribuem para a salinização do solo e redução da produtividade da planta (SÁ et al., 2016; BRITO et al., 2018). Nesse contexto cresce o uso da irrigação com água proveniente de fontes como poços e reservatórios de superfície que é de qualidade baixa por conter sais solúveis, resultando na incorporação destes sais no perfil do solo (SOUZA et al., 2015).

Os principais determinantes da salinidade nos solos são o NaCl e o CaSO<sub>4</sub>, visto que provocam a maioria das reações deletérias ocorrentes nos vegetais (TURKAN; DEMIRAL, 2009). Além dos problemas hídricos, o acúmulo de sais no tecido vegetal produz efeitos deletérios ao metabolismo vegetal (MUNNS; TESTER, 2008).

Altas condutividades elétricas no solo provocam a inibição da absorção de água pela planta, promovendo uma diminuição no crescimento do vegetal, e isto se dá devido ao efeito osmótico que induz à deficiência hídrica causada pela salinidade. Em paralelo ocorre o efeito iônico, em que íons como Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> são absorvidos excessivamente do solo, promovendo também uma redução no crescimento da planta (MANSOUR, 2014; SÁ et al., 2015).

Os baixos potenciais osmóticos e as altas concentrações de sódio e outros íons específicos (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, etc.), podem provocar toxicidade a planta (TOPPA; BRAMBILLA, 2011; FREIRE et al., 2013), tornando-se a salinidade um dos graves problemas abióticos capaz de promover uma redução na produção e desenvolvimento das plantas (PLAZEK et al., 2013; MUNNS; GILLIHAM, 2015).

Contudo existem duas maneiras de minimizar os problemas ocasionados pela salinidade de solo às plantas: 1) ter uma escolha criteriosa das culturas ou cultivares que são tolerantes ao solo salino e 2) adotar práticas de manejo de solo adequadas para reduzir ao máximo a salinidade, de forma a proteger as plantas e melhorar o solo para atender à tolerância das plantas (AMORIM, 2009).

Esforços estão em curso para conferir tolerância ao sal em espécies de culturas sensíveis a ele, utilizando tanto o melhoramento clássico de plantas como a biotecnologia (TAIZ et al., 2017).

### **2.3. Efeitos da salinidade nas plantas**

#### **2.3.1. Sódio (Na<sup>+</sup>) e Potássio (K<sup>+</sup>)**

A absorção excessiva de íons do solo, principalmente o Na<sup>+</sup>, causa diversos prejuízos na planta exposta a salinidade (SILVEIRA et al., 2009; MANSOUR, 2014).

Em altas concentrações ele diminui o crescimento e produtividade das plantas (MANSOUR, 2014)

O estresse salino conduz ao aumento de  $\text{Na}^+$  com conseqüente diminuição de  $\text{K}^+$ , tanto nas folhas quanto nas raízes (MAGGIO et al., 2007), visto que uma satisfatória razão entre  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  é vital para ativar reações bioquímicas catalisadas por enzimas no citosol e manter o crescimento das plantas (WAKEEL, 2013). Isto acontece pelo fato do íon  $\text{Na}^+$  competir com o  $\text{K}^+$  por meio de um mecanismo que envolve transportadores de membranas de baixa afinidade, visto que o último encontra-se comumente em baixa concentração em solos salinos, implicando assim numa maior absorção do  $\text{Na}^+$  (BLUMWALD et al., 2000; WILLADINO; CAMARA, 2010; SALISBURY; ROSS, 2012; DEINLEIN et al., 2014; ).

O  $\text{K}^+$  é um nutriente que está relacionado com processos bioquímicos e físicos, como na ativação de enzimas, com a manutenção do turgor celular, alongamento, osmorregulação, movimentos das folhas e de abertura e fechamento dos estômatos, tropismos, transporte de solutos no floema, balanço de íons, polarização da membrana e controle do pH, função e estrutura de cloroplastos, conservação de energia nas membranas (BENITO et al., 2014; SHABALA; POTTOSIN, 2014), sendo o seu equilíbrio intracelular de extrema importância para o rendimento das culturas (DREYER, 2014; SHABALA; POTTOSIN, 2014).

Para tolerarem a salinidade as plantas adotam estratégias que são baseadas em principalmente dois mecanismos: em primeiro lugar, o  $\text{Na}^+$  é excluído nas raízes através de proteínas transportadoras presentes nas membranas plasmáticas e compartmentalizado nos vacúolos das células corticais, 2) A raiz absorve o  $\text{Na}^+$ , e transporta até os tecidos foliares onde o íon é compartmentado nos vacúolos. (MUNNS, 2005; ROY et al., 2014). Como a salinidade prejudica o equilíbrio osmótico da célula, e o  $\text{K}^+$  é um dos principais componentes celulares relacionados com este equilíbrio, uma forma de solucionar a redução deste nutriente é a produção de osmólitos compatíveis pelas plantas, como a prolina (SHABALA; POTTOSIN, 2014).

Em baixas quantidades, o  $\text{Na}^+$  não é prejudicial às plantas, porém, em altas concentrações, ele tende a limitar a capacidade de compartimentalização de íons das células e para manter a razão de  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  nas folhas as plantas precisarão de um mecanismo de exclusão deste elemento para manter seus níveis abaixo dos considerados tóxicos (MUNNS, 2011; BENITO et al., 2014).

### 2.3.2. Crescimento e produção de biomassa

Os efeitos da salinidade sobre as plantas podem causar dificuldades de absorção de água, toxicidade de íons específicos e pode ocorrer a interferência dos sais nos processos fisiológicos, fazendo com que ocorra redução do crescimento e do desenvolvimento das plantas (GHEYI et al., 2010; MANSOUR, 2014; SÁ et al., 2015).

A sensibilidade das plantas aos sais varia em função da espécie, concentração e natureza iônica dos sais, período de exposição, estágio fenológico e disponibilidade de nutrientes (ASHRAF; HARRIS, 2004; ESTEVES; SUZUKI, 2008).

A salinidade se expressa por altas reduções do crescimento e distúrbio na permeabilidade da membrana, atividade de troca hídrica, condutância estomática, fotossíntese e equilíbrio iônico (GHEYI et al., 2010).

A inibição do crescimento em plantas sob solo salino ocorre tanto pela redução da absorção de água pelas plantas quanto pelo acúmulo de sais no interior das mesmas (GREENWAY; MUNNS, 1980; SÁ et al., 2015), e o acúmulo excessivo desses íons tóxicos contribui para aceleração dos processos de senescência e abscisão foliar (MUNNS, 2005).

A tolerância a salinidade está comumente associada a tolerância à seca, uma vez que a alta concentração de sódio no solo inibe a absorção de água pela planta induzindo a deficiência hídrica (PLAZEK et al., 2013). Como consequência da limitação hídrica, as plantas mantêm suas células flácidas com redução na divisão e expansão celular (PLAZEK et al., 2013; OTTO et al., 2017), o que faz com que o crescimento da superfície foliar seja reduzido (WANG; NIL, 2000). Em consequência as plantas iniciam mecanismos de ajuste osmótico a fim de manter as células túrgidas, ocasionando crescimento lento nas plantas estressadas (GUERZONI et al., 2014).

A redução no desenvolvimento de plantas sob solo salino também pode ser atribuída a alterações na alocação de fotoassimilados (ZENG et al., 2003), devido ao aumento dos processos de consumo de energia, tais como ajuste osmótico e processos de transporte ativo de íons pelo excesso de sais na planta (ASCH et al., 2000) tendo como consequência reduções significativas em massa da parte aérea, altura da planta e número de folhas por planta (MOHAMMAD et al., 1998).

Outro agravante do estresse salino é que o  $\text{Na}^+$ , que é tóxico às plantas, mesmo tendo diversos canais de entrada pela membrana plasmática das raízes, também pode entrar por canais específicos de entrada de nutrientes (SALISBURY; ROSS, 2012;

DEINLEIN et al., 2014; ), como por exemplo a competição pela mesma entrada de  $K^+$ , ocasionando uma redução na absorção do mesmo. Além de prejudicar o crescimento da planta, a salinidade atinge negativamente o metabolismo celular, bem como processos fisiológicos e bioquímicos (HASANUZZAMAN et al., 2014).

### **2.3.3. Relações hídricas e trocas gasosas**

O excesso de sais no solo pode alterar as funções fisiológicas e bioquímicas das plantas promovendo distúrbios nas relações hídricas e alterações na absorção e na utilização de nutrientes essenciais para as plantas (AMORIM et al., 2010).

O cloreto de sódio (NaCl) é o sal mais solúvel e abundante (MUNNS; TESTER, 2008), e promove retenção de água, portanto, por essa razão o estresse salino também pode ser considerado um estresse hídrico (FLOWERS; COLMER, 2008). A molécula de água atua como solvente, promovendo a atração do NaCl que tem alta afinidade pela mesma, separando o  $Na^+$  do  $Cl^-$ , onde os mesmos irão unir-se ao  $O^-$  e  $H^+$ , respectivamente, indisponibilizando a água para a planta (OLIVEIRA et al., 2010).

O potencial hídrico da folha descreve o status hídrico e tem sido muito utilizado para estudos das relações hídricas das plantas (WESTGATE, 1994). Portanto, a medição do potencial hídrico foliar como medida de referência do status hídrico da planta em condições específicas de crescimento torna-se importante fisiologicamente, pois mostra o quanto fatores abióticos alteram a movimentação da água no sistema solo-planta-atmosfera durante o crescimento vegetal, e se relaciona com a expansão celular (PREMACHANDRA et al., 1992; BERGONCI et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Predominantemente, a salinidade reduz o crescimento e o desenvolvimento das plantas, provocada pela diminuição do potencial hídrico da solução do solo a nível abaixo do necessário para que possa ocorrer a absorção de água pelas células das raízes, reduzindo a expansão celular, visto que o potencial de pressão da célula tende a se igualar com o do solo (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A redução na absorção de água é um dos fatores importantes que contribuem para prejuízos no crescimento das plantas sob solos salinos (BHATT et al., 2008), e este fator está diretamente relacionado à fotossíntese, pois as plantas sob estresse diminuem a capacidade fotossintética, e como consequência, o crescimento (KUMAR et al., 2014). A fotossíntese pode ser inibida quando altas concentrações de  $Na^+$  acumulam-se nos cloroplastos, a qual afeta os processos bioquímicos e fotoquímicos envolvidos na

fotossíntese (TAIZ et al., 2017). Algumas limitações na fotossíntese são provocadas por haver reduções no tamanho e número de folhas, baixos teores de clorofila, menor condutividade estomática, diminuindo a sua superfície transpirante e prejudicando a eficiência do fotossistema II (FSII) (TESTER; DAVENPORT, 2003; MUNNS, 2011; COSCOLIN et al., 2011; SENGAR et al., 2013).

A redução da área foliar nas plantas cultivadas sob salinidade é um importante mecanismo para controlar a perda de água, porém, o processo fotossintético depende da interceptação da energia luminosa e sua conversão em energia química, que ocorre diretamente na folha, promovendo a produção de carboidratos (JAMES et al., 2002; GOMES et al., 2011).

Como mecanismo de defesa contra a salinidade as plantas fecham seus estômatos, e esta resposta normalmente ocorre antes da inibição da fotossíntese, restringindo a disponibilidade de CO<sub>2</sub> nos sítios de assimilação no cloroplasto, sendo considerado o mais importante mecanismo de defesa no controle da fixação do carbono (SILVA JÚNIOR et al., 2012; BRITO et al., 2018).

#### **2.3.4. Florescência da clorofila e pigmentos fotossintetizantes**

Reduções no conteúdo de clorofilas (SANTOS, 2004) e na eficiência do fotossistema II também são provocados pelo acúmulo de sais no solo (HASEGAWA et al., 2000; MUNNS, 2002; KAO et al., 2003; SAYED, 2003).

A atividade fotoquímica apresenta certa resistência ao estresse salino, sem promover redução da eficiência quântica potencial do fotossistema II, quando o tempo de exposição à salinidade é curto. Porém, quando o tempo de exposição aos sais se prolonga, o acúmulo de íons nos tecidos aumenta e a atividade fotoquímica também pode ser afetada (MUNNS; TESTER, 2008; PRAXEDES et al., 2010; SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2011).

Possíveis relações do estresse salino com a capacidade fotossintética e a redução da assimilação de CO<sub>2</sub> vêm sendo investigadas através da análise qualitativa e quantitativa da absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo fotossistema II (LAGE-PINTO et al., 2012). Mudanças nas características dos sinais de fluorescência são desencadeados em função de alterações no estado funcional das membranas dos tilacoides (SILVA et al., 2011) que também causa alterações no funcionamento do

fotossistema II (PSII) que é um indicador da eficiência no uso da radiação fotoquímica e, conseqüentemente, na assimilação de CO<sub>2</sub> pelas plantas (FREIRE et al., 2014).

Em geral os pigmentos fotossintetizantes mais presentes nos vegetais são as clorofilas *a* e *b*, e os carotenóides (LISAR et al., 2012). Esses pigmentos compõem os fotossistemas, apresentando papel fundamental nos processos de síntese vegetal (LIU et al., 2011). Os sais provocam alterações bioquímicas e fisiológicas nas plantas, onde os teores de clorofilas e carotenoides sofrem alterações, comprometendo a atividade fotossintética e conseqüentemente o crescimento, desenvolvimento e produção vegetal (CAVALCANTE et al., 2011). Essa redução da clorofila, nas plantas expostas à salinidade, ocorre em razão do aumento da atividade da enzima clorofilase, que degrada as moléculas deste pigmento (FREIRE et al., 2013).

### **2.3.5. Espécies reativas de oxigênio e sistema antioxidante**

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas pelas plantas quando estas encontram-se em condições normais de crescimento e estão envolvidas na sinalização celular, entretanto, as plantas possuem mecanismos que mantêm estas espécies em níveis adequados (SHARMA et al., 2012; AHMAD et al., 2013). No entanto, sob condições de estresses como salino, hídrico, excesso de calor e luz, a produção de EROs aumenta chegando a causar danos (MITTLER, 2002; MILLER et al., 2010; DEMIDCHIK, 2015).

O excesso de poder redutor na forma de elétrons nos fotossistemas, se não dissipado de maneira eficaz, poderá reduzir o O<sub>2</sub> convertendo-o em diferentes tipos de EROs, principalmente o oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>•</sup>), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radical hidroxil (•OH), o que promove a peroxidação lipídica (BARBOSA et al., 2014; GUPTA e HUANG 2014; KUMAR et al 2018). Além disso, sob condições adversas, o processo de fotorespiração pode ser intensificado, aumentando a produção de peróxido de hidrogênio nas folhas, através de reação nos peroxissomos, contribuindo ainda mais com a fotoxidação (MILLER et al., 2010; SILVEIRA et al., 2010; SHARMA et al., 2012). Esse tipo de ERO conduz a prejuízos na membrana plasmática das células, permitindo o extravasamento de eletrólitos (TUTEJA, 2007).

Os cloroplastos são considerados as principais organelas geradoras de EROs, seguidos pelas mitocôndrias e peroxissomos (SHARMA et al., 2012). Nos cloroplastos,

a formação de EROs está relacionada com eventos da fotossíntese, e na mitocôndria, de 1 a 5% de  $O_2$  consumido em condições de escuro, pode ser responsável pela produção de EROs (GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012).

A oxidação lipídica origina dentre outros produtos secundários que agravam o dano oxidativo, o ácido malondialdeído (MDA), que é o principal e mais estudado produto da peroxidação lipídica. O MDA é conhecido como um marcador molecular para designar peroxidação lipídica em células de plantas submetidas a diferentes estresses abióticos, como a salinidade (DAVEY et al., 2005; GILL; TUTEJA, 2010; SHARMA et al., 2012). Com isso ocorre redução na fluidez, aumento do extravasamento e danos as proteínas de membrana, inativando enzimas e canais iônicos (GILL; TUTEJA, 2010).

Como resposta ao dano oxidativo provocado pela alta produção de EROs, as plantas desenvolveram mecanismos antioxidantes complexos e eficientes, que são compostos de enzimas usadas para o eliminação de EROs (MUKHOPADYAY et al., 2012; PEREIRA et al., 2015; SIDDIQUI et al., 2015; ANJUM et al., 2017; ROSSATTO et al., 2017). Essas enzimas são bastante sensíveis às condições de estresse abiótico servindo como sinalizadores e atenuantes deste, destacando-se: a ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (COSCOLIN et al., 2011; CIA et al., 2012; ANJUM et al., 2017).

A enzima SOD constitui a primeira linha de defesa contra as EROs, catalisando a reação de dismutação do ânion  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  (BOWLER et al., 1992; ALSCHER et al., 2002). Da mesma forma, as enzimas CAT e APX catalisam a reação de conversão do  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$  (ZHU et al., 2010).

A SOD influencia nos níveis de  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  os quais formam os dois substratos da reação para a formação de  $OH^\cdot$ . Modalidades diferentes de SOD ou isoenzimas estão presentes nas plantas de três formas: isoenzimas de SOD de cobre/zinco SOD (Cu/Zn-SOD), manganês SOD (Mn-SOD) e ferro SOD (Fe-SOD) (BOWLER et al., 1991; SHARMA et al., 2012).

A enzima APX está localizada em todos os compartimentos celulares de produção de EROs, podendo converter em nível celular o  $H_2O_2$  à água (CARVALHO, 2008; SHARMA et al., 2012). A APX constitui a segunda linha de frente de detoxicação de EROs, o que a torna uma enzima importante para as plantas, podendo ser encontrada nos cloroplastos, mitocôndrias, apoplasto e citosol (MITTLER, 2002).

Nos cloroplastos e mitocôndrias a APX atua reduzindo o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formado pela ação da SOD, utilizando como agente redutor o ascorbato (MITTLER, 2002). A fotorredução do O<sub>2</sub> à H<sub>2</sub>O nos cloroplastos pode gerar O<sub>2</sub><sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que são eliminados pela ação da SOD e da APX, respectivamente (ASADA, 2006).

A catalase é encontrada nos peroxissomos e catalisa a oxidação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub> durante a fotorrespiração, bem como na β – oxidação de ácidos graxos (MITTLER, 2002; GILL; TUTEJA, 2010).

A atividade da CAT é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por isso são consideradas indispensáveis para a desintoxicação de EROs, especialmente em condições de estresse severo, quando os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumentam (CARVALHO, 2008; GILL; TUTEJA, 2010; ANJUM et al., 2016).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, P. Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling. **Academic Press**, 2014.

AHMAD, R.; LIM, C.J.; KWON, S.Y. Glycine betaine: a versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, n. 1, p. 49-57, 2013.

AHMED, C. B.; MAGDICH, S.; ROUINA, B. B.; BOUKHRIS, M.; ABDULLAH, F. B. Saline water irrigation effects on soil salinity distribution and some physiological responses of field grown Chemlali olive. **Journal of Environmental Management**, v. 113, p. 538-544, 2012.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

AMORIM, A. V.; GOMES FILHO, E.; BEZERRA, M. A.; PRISCO, J. T.; LACERDA, C. F. Respostas fisiológicas de plantas adultas de cajueiro anão precoce à salinidade. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 1, p.113-121, 2010.

AMORIM, J. R. A. Melhoramento genético e tolerância de plantas à salinidade. **Agrosoft Brasil**, 2009. Disponível em: <<https://agrosoft.org.br/2009/12/25/melhoramento-genetico-e-tolerancia-de-plantas-a-salinidade-2/>> Acesso em: 12 fev. 2019.

ANJUM, S. A.; ASHRAF, U.; TANVEER, M.; KHAN, I.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD B.; ZOHAIB, A.; ABBAS, F.; SALEEM, M. F.; ALI, I.; WANG, L. C. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-12, 2017.

ANJUM, S. A.; TANVEER, M.; ASHRAF, U.; HUSSAIN, S.; SHAHZAD, B.; KHAN, I.; WANG, L. Effect of progressive drought stress on growth, leaf gas exchange, and antioxidant production in two maize cultivars. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 17132–17141, 2016.

ASADA, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 391-396, 2006.

ASCH, F.; DINGKUHN, M.; DÖRFFLING, K.; MIEZAN, K. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. **Euphytica**, v.113, p.109-118, 2000.

ASHRAF, M.; ATHAR, H. R.; HARRIS, P. J. C.; KWON, T.R. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. **Advances in Agronomy**, v. 97, n. 7, p. 45-110, 2008.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. **Plant Science**, v. 166, p. 3-16, 2004.

BARBOSA, M. A. M.; LOBATO, A. K. S; PEREIRA, T. S.; COELHO, K. N. N.; SAMPAIO, L. S.; dos SANTOS FILHO, B. G.; SILVEIRA, J. A. G. Photosynthesis involvement in modulation of ascorbate and glutathione in Euterpe oleracea plants exposed to drought. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 42, n. 1, p. 119-127, 2014.

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

BENATTI, B. P. **Compartimentalização de biomassa e de nutrientes em estruturas de plantas de eucalipto cultivadas em solos distintos**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

BENITO, B.; HARO, R.; AMTMANN, A.; CUIN, T.A.; DREYER, I. The twins K<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup> in plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, p. 723–731, 2014.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; SANTOS, A. O. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 8, p. 1531-1540, 2000.

BERTAZZINI, M.; SACCHI, G. A.; FORLANI, G. A differential tolerance to mild salt stress conditions among six Italian rice genotypes does not rely on Na<sup>+</sup> exclusion from shoots. **Journal of plant physiology**, v. 226, p. 145-153, 2018.

BHATT, M. J.; PATEL, A. D.; BHATTI, P. M.; PANDEY, A. N. Effect of soil salinity on growth, water status and nutrient accumulation in Seedlings of *Ziziphus mauritiana* (Rhamnaceae). **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v. 16, p. 383-401, 2008.

BLUMWALD E. Sodium transport and salt tolerance in plant cells. **Current opinion in cell biology**, v. 12, n. 4, p. 431-434, 2000.

BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 43, p. 83-116, 1992.

BRITO, M. E.; SOARES, L. A.; SOARES FILHO, W. S.; FERNANDES, P. D.; SILVA, E. C.; SÁ, F. V.; SILVA, L. A. Emergence and morphophysiology of Sunki mandarin and other citrus genotypes seedlings under saline stress. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 1, p. 0801, 2018.

CARVALHO, M. H. C. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. **Plant Signaling & Behavior**, v.3, p. 156-165, 2008.

CAVALCANTE, L. F.; DIAS, T. J.; NASCIMENTO, R.; FREIRE, J. L. O. Clorofila e carotenoides em maracujazeiro-amarelo irrigado com águas salinas no solo com biofertilizante bovino. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 699-705, 2011.

CAVALCANTE, P. G. S.; SANTOS, C. M.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; AVELINO, J. R. L.; ENDRES, L. Morpho-physiological adaptation of *Jatropha curcas* L. to salinity stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 4, p. 563, 2018.

CHEN, D.; WANG, S.; CAO B.; CAO, D.; LENG, G.; LI, H.; YIN, L.; SHAN, L.; DENG, X. Genotypic variation in growth and physiological response to drought stress

and re-watering reveals the critical role of recovery in drought adaptation in maize seedlings. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-15, 2016.

CIA, M.C.; GUIMARÃES, A.C.R.; MEDICI, L.O.; CHABREGAS, S.M.; AZEVEDO, R.A. Antioxidant response to water deficit by drought-tolerant and sensitive sugarcane varieties. **Annals of Applied Biology**, v. 161, p. 313-324. 2012.

COSCOLIN, R. B. S.; BROETTO, F.; MARCHESE, J. A.; CAMPOHERMOSO, M. C.; PALADINI, M. V. Effects of hydric deficiency on gas exchange parameters and metabolism of *Eucalyptus grandis* clones. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 4, p. 255-262, 2011.

DAVEY, M. W.; STALS, E.; PANIS, B.; KEULEMANS, J. K.; SWENNEN, R. L. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 347, n. 2, p. 201-207, 2005.

DEINLEIN, U.; STEPHAN, A. B.; HORIE, T.; LUO, W.; XU, G.; SCHROEDER, J. I. Plant salt-tolerance mechanisms. **Trends in Plant Science**, v. 6, p. 371-379, 2014.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. **Environmental and Experimental Botany**, v. 109, p. 212-228, 2015.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F.; SOUZA, E. R.; FERREIRA, J. F.; SOUSA NETO, O. N.; QUEIROZ, I. S. R. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F.; FILHO, E. G. Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Fortaleza, 2 ed. **INCTSal**. p.151-161, 2016.

DOSSA, D.; SILVA, H. D.; BELLOTE, A. F. J.; RODIGHIERI, H. R. Comunicado técnico: produção e rentabilidade do eucalipto em empresas florestais. **Embrapa Florestas**, Paraná. 2010.

DREYER, I. Potassium (K<sup>+</sup>) in plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, p. 655, 2014.

ESTEVES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v.12, p.662-679, 2008.

FLORES, T. B.; ALVARES, C. A.; SOUZA, V. C.; STAPE, J. L. *Eucalyptus* no Brasil: Zoneamento Climático e Guia para identificação. **IPEF**, 2016.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytologist**, v. 179, p.945-963, 2008.

FONSECA, S. M. D. F. **Manual Prático de Melhoramento Genético do Eucalipto**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2010. 200 p.

FREIRE, J. L. O.; DIAS, T. J.; CAVALCANTE, L. F.; FERNANDES, P. D.; NETO, A. J. L. Rendimento quântico e trocas gasosas em maracujazeiro amarelo sob salinidade hídrica, biofertilização e cobertura morta. **Revista Ciência Agrônômica**, v.45, n.1, p.82-91, 2014.

FREIRE, J. L. D. O., CAVALCANTE, L. F., NASCIMENTO, R. D., REBEQUI, A. M. Teores de clorofila e composição mineral foliar do maracujazeiro irrigado com águas salinas e biofertilizante. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 57-70, 2013.

GHEYI, H. R.; DIAS, N. S. D.; LACERDA, C. F. Manejo da salinidade na agricultura: Estudo básico e aplicados. Fortaleza, **INCT Sal**, 2010.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 48, p. 909–930, 2010.

GOLDEMBERG, J. Biomassa e energia. **Química Nova**. V. 32, p. 582-587, 2009.

GOMES, K. R.; AMORIM, A. V.; FERREIRA, F. J.; FRANCISCO FILHO, L. A.; LACERDA, C. F.; GOMES-FILHO, E. Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, p. 365-370, 2011.

GONÇALVES, J. L. M. Principais solos usados para plantações florestais. In: GONÇALVES, J. L. M.; STAPE, J. L. Conservação e cultivo de solos para plantações florestais. Piracicaba: **IPEF**, cap. 1, p.1-46, 2002 .

GREENWAY, H.; MUNNS, R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. **Annual review of plant physiology**, v. 31, n. 1, p. 149-190, 1980.

GUERZONI, J. T. S.; BELINTANI, N. G.; MOREIRA, R. M. P.; HOSHINO, A. A.; GUPTA, B., HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological,

biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, v. 1, p.1-18, 2014.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International journal of genomics**, v. 2014, 2014.

HASANUZZAMAN, M.; ALAM, M. M.; RAHMAN, A.; HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against saltinduced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **BioMed Research Internatinal**, v. 1, p. 1-17, 2014.

HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; ZHU, J. K. E BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual review of plant biology**, v. 51, n. 1, p. 463-499, 2000.

**IBÁ** – INDUSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. 2017. Brasília. Relatório Ibá. 80p. Disponível em: <[http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA\\_RelatorioAnual2017.pdf](http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2018.

IQBAL, N.; UMAR, S.; KHAN, N.A.; KHAN, M.I.R. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 100, p. 34-42, 2014.

JAMES, R. A.; RIVELLI, A. R.; MUNNS, R.; VON CAEMMERER, S. Factors affecting CO<sub>2</sub> assimilation, leaf injury and growth in salt-stressed durum wheat. **Functional Plant Biology**, v. 29, p. 1393–1403, 2002.

KAO, W.Y.; TSAI, T.T.; SHIH, C.N. Photosynthetic gas exchange and chlorophyll a fluorescence of three wild soybean species in response to NaCl treatments. **Photosynthetica**, v. 41, n. 3, p. 415-419, 2003.

KUMAR, M.; KUMAR, R.; JAIN, V.; JAIN, S. Differential behavior of the antioxidant system in response to salinity induced oxidative stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of *Brassica juncea* L. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 13, p. 12-19, 2018.

KUMAR, T.; KHAN, M. R.; JAN, S. A.; AHMAD, N.; NIAZ ALI, N.; ZIA, M. A.; ROOMI, S.; IQBAL, A.; ALI, G. M. Efficient regeneration and genetic transformation

of sugarcane with AVP1 gene. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 14, p. 165-171, 2014.

LAGE-PINTO, F.; BERNINI, E.; OLIVEIRA, J. G. D.; VITÓRIA, A. P. Photosynthetic analyses of two native Atlantic Forest species in regenerative understory of *Eucalyptus* plantation. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 2, p. 95-106, 2012.

LISAR, S. Y. S.; MOTAFAKKERAZAD, R.; HOSSAIN, M. M. & RAHMAN, I. M. M. Water Stress In Plants: Causes, Effects And Responses. In: RAHMAN, I. M. M.; HASEGAWA, H. Water Stress, **Intech**, p.01-14, 2012.

LIU, C.; LIU, Y.; GUO, K.; FAN, D.; LI, G.; ZHENG, Y.; YU, L.; YANG, R. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in habitats of southwestern China. **Environmental and Experimental Botany**, v.71, .n.1, , p.174-183, 2011.

MACEDO, R.L.G.; VENTURIN, R.P.; VENTURIN, N.; VALE, R.S.; VALE, F.A.F. Plasticidade ecofisiológica. In: VALE, A. B.; MACHADO, C. C.; PIRES, J. M. M.; BARBOSA, M. Eucaliptocultura no Brasil: Silvicultura, manejo e ambiência. Viçosa: **SIF**, Cap. 22, p. 421-437, 2014.

MAGGIO, A.; RAIMONDI, G.; MARTINO, A.; PASCALE, S. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, n. 3, p. 276–282, 2007.

MANSOUR, M. M. F. The plasma membrane transport systems and adaptation to salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 18, p. 1787-1800, 2014.

MEDEIROS, D. B.; SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; TEIXEIRA, M. M.; BUCKERIDGE, M. S. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25, n. 3, p. 213-222, 2013.

MILLER, G.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell and Environment**, v. 33, p. 453-467, 2010.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MUKHOPADYAY, M.; BANTAWA, P.; DAS, A.; SARKAR, B.; BERA, B.; GHOSH, P.; MONDAL, T.,K. Changes of growth, photosynthesis and alteration of leaf antioxidative defence syste of tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] seedlings under aluminum stress. **Biometals**, v. 25, n. 6, p. 1141-1154, 2012.

MUNNS, R. Plant Adaptations to Salt and Water Stress: Differences and Commonalities. **Advances in Botanical Research**, v. 57, p. 1-32, 2011.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New Phytologist**, v.167, n. 03, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, cell and environment**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? **New phytologist**, v. 208, n. 3, p. 668-673, 2015.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanism of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

NEVES, T. A.; PROTÁSIO, T. P.; TRUGILHO, P. F.; VALLE, M. L. A.; SOUSA, L. C.; VIEIRA, C. M. M. Qualidade da madeira de clones de *Eucalyptus* em diferentes idades para a produção de bioenergia. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 56, p. 139-148, 2013.

OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E.; ENÉAS-FILHO, J. O problema da salinidade na agricultura e as adaptações das plantas ao estresse salino. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 11, p. 1-16, 2010.

OTTO, M. S. G.; FRANCISCO, J. G.; GONSALEZ, B. T.; CALVO, L. A.; MATTOS, E. M.; ALMEIDA, M.; MORAL, R. A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; STAPE, J. L.; OLIVEIRA, R. F. Changes in c-aminobutyric acid concentration, gas exchange, and leaf anatomy in *Eucalyptus* clones under drought stress and rewatering. **Acta Physiol Plant**, v. 39, p. 1-13, 2017.

OTTO, M. S. G.; VERGANI, A. R.; GONÇALVES, A. N.; VRECHI, A.; SILVA, S. R.; STAPE, J. L. Fotossíntese, condutância estomática e produtividade de clones de *Eucalyptus* sob diferentes condições edafoclimáticas. **Revista Árvore, Viçosa**, v. 37, n. 3, p. 431-439, 2013.

PATTERSON, J. H.; NEWBIGIN, E. D.; TESTER, M.; BACIC, A.; ROESSNER, U. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 14, p. 4089-4103, 2009.

PEREIRA, E. S.; SILVA, O.N.; ARGEMIRO FILHO P.; FELIPE, J.P.; ALVES, G. A. R.; LOBATO, A. K. S. Antioxidant enzymes efficiently control leaf and root cells damage in young Euterpe oleracea plants exposed to waterlogging. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n. 3, p. 213-219, 2015.

PINHEIRO, H. A.; SILVA, J. V.; ENDRES, L. FERREIRA, V. M.; CÂMARA, C. A.; CABRAL, F. F.; OLIVEIRA, J. F.; CARVALHO, L. W. T.; SANTOS, J. M.; SANTOS FILHO, B. G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) seedlings subjected to salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 27, n. 3, p. 385-392, 2008.

PLAZEK, A.; TATRZAŃSKA, M.; MACIEJEWSKI, M.; KOSCIELNIAK, J.; GONDEK, K.; BOJARCZUK, J.; DUBERT, F. Investigation of the salt tolerance of new Polish bread and durum wheat cultivars. **Acta physiologiae plantarum**, v. 35, n. 8, p. 2513-2523, 2013.

PRAXEDES, S. C.; LACERDA, C. F.; DAMATTA, F. M.; PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Salt tolerance is associated with differences in ion accumulation, biomass allocation and photosynthesis in cowpea cultivars. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.196, p.193-204, 2010.

PREMACHANDRA, G. S.; SANEOKA, H.; FUJITA, K.; OGATA, S. Osmotic adjustment and stomatal response to water deficits in maize. **Journal Of Experimental Botany**, v. 43, n. 11, p. 1451-1456, 1992.

PRISCO, J. T. Alguns aspectos da fisiologia do “stress” salino. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 3, p. 85-94, 1980.

PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GHEYI H R, DIAS N S, LACERDA C F. Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Fortaleza, **INCTSal**, p. 143-159, 2010.

RENGASAMY P. Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. **Functional Plant Biology**, v. 37, n. 7, p. 613-620, 2010.

RIBEIRO, M. R. Origem e Classificação dos Solos Afetados por Sais. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (Eds.). Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Fortaleza, **INCTSal**. p.11-19. 2010.

ROSSATTO, T.; AMARAL, M. N.; BENITEZ, L. C.; VIGHI, I. L.; BRAGA, E. J. B.; MAGALHAES JÚNIOR, A. M.; MAIA M. A. C.; PINTO, L. S. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, n. 23, v. 4, p. 865-875, 2017.

ROY, S J.; NEGRÃO, S; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115-124, 2014.

SÁ, F. V. S., PAIVA, E. P., TORRES, S. B., BRITO, M. E. B., NOGUEIRA, N. W., FRADE, L. J. G., & DE FREITAS, R. M. O. Seed germination and vigor of different cowpea cultivars under salt stress. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n. 4, p. 450-455, 2016.

SÁ, F. V. DA S.; BRITO, M. E. B.; SILVA, L. DE A.; MOREIRA, R. C. L.; FERNANDES, P. D.; FIGUEIREDO, L. C. Fisiologia da percepção do estresse salino em híbridos de tangerineira - Sunki Comum sob solução hidropônica salinizada. **Comunicata Scientiae**, v.6, p.463-470, 2015.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Fisiologia das plantas**. Ed. Cengage Learning, 2012. 792p.

SANTOS, C.V., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. **Scientia Horticulturae**, v. 103, n. 1, p. 93-99, 2004.

SAYED, O.H., 2003. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. **Photosynthetica** v. 41, n. 3, p. 321-330, 2003.

SENGAR, K.; SENGAR, R. S.; SINGH, A. Biotechnological and genomic analysis for salinity tolerance in sugarcane. **International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research**, v. 4, p. 407-414, 2013.

SHABALA, S.; POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 151, p. 257-279, 2014.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of botany**, v. 2012, 2012.

SIDDIQUI, M. H.; AL-KHAISHANY, M. Y.; AL-QUTAMI, M. A.; AL-WHAIBI, M. H.; GROVER, A.; ALI, H. M.; AL-WAHIBI, M. S.; BUKHARI, N. A. Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 10214-10227, 2015.

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

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Salt stress induced damages on the photosynthesis of physic nut young plants. **Scientia Agricola**, v.68, p.62-68, 2011.

SILVA, E. N.; RIBEIRO, R. V.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIÉGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. **Journal of Arid Environments**, v.74, p.1130-1137, 2010.

SILVA JUNIOR, G. D. S.; DE MORAIS, M. B.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L. Crescimento de genótipos diplóides de bananeira submetidos ao estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 16, n. 11, 2012.

SILVEIRA, J. A.; SILVA, S. L.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. **Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados**, v. 1, p. 161-18, 2010.

SILVEIRA, J. A. G.; ARAÚJO, S. A. M.; LIMA, J. P. M. S.; VIÉGAS, R. A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. **Environmental and Experimental Botany**, v.66, p. 1-8, 2009.

SOUZA, B. R.; FREITAS, I. A. S.; Lopes, V. A.; ROSA, V. R.; MATOS, F. S. Growth of *Eucalyptus* plants irrigated with saline water. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 10, p. 1091-1096, 2015.

STAPE, J. L.; BINKLEY, D.; RYAN, M. G.; GOMES, A. N. Water use, water limitation and water use efficiency in a *Eucalyptus* plantation. **Bosque**, v. 25, n. 2, p. 35-41, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017. 858p.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, p. 503–527, 2003.

TONELLO, K. C.; TEIXEIRA FILHO, J. Efeito das variáveis ambientais no comportamento ecofisiológico de dois clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*: condições de campo. **Scientia Forestalis**, v. 39, p. 419-431, 2011.

TONINI, H.; SCHNEIDER, P. R.; FINGER, C. A. G. Curvas de índice de sítio para povoamentos clonais de *Eucalyptus saligna* smith para a Depressão Central e Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 16, n. 1, p. 27-43, 2006.

TOPPA, E. V. B.; BRAMBILLA, W. P. O melhoramento de plantas e a salinidade dos solos. **Revista Verde**, v.6, n.1, p. 21 – 25, 2011.

TURKAN, I.; DEMIRAL, T. Recent developments in understanding salinity tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v.6, n.1, p.2-9, 2009.

TUTEJA, N. Mechanisms of high salinity tolerance in plants. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 2007. p. 419-438.

VIEIRA, M.; BONACINA, D. M.; SCHUMACHER, M. V.; CALIL, F. N.; CALDEIRA, M. V. W.; WATZLAWICK, L. F. Biomassa e nutrientes em povoamento de *Eucalyptus urograndis* na Serra do Sudeste-RS. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2481-2490, 2012.

WAKEEL, A. Potassium-sodium interactions in soil and plant under saline-sodic conditions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 176, n. 3, p. 344-354, 2013.

WANG, Y.; NIL, N. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.75, n.1, p.623-627, 2000.

WANI, S.H.; SINGH, N.B.; HARIBHUSHAN, A; MIR, J.I. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance role of glycine betaine. **Current Genomics**, v. 14, p. 157-65, 2013.

WESTGATE, M. E. Water status and development of the maize endosperm and embryo during drought. **Crop Science**, v. 34, n. 1, p. 76-83, 1994.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Origen y naturaleza de los ambientes salinos. In: REIGOSA, M. J. et al. (Ed.). La ecofisiología vegetal una ciencia de síntesis. Madrid: Editora Thompson, cap. 10, p. 303-330, 2004.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, n. 11, p. 1-23, 2010.

ZENG, L.; POSS, J. A.; WILSON, C.; DRAZ, A. S. E.; GREGORIO, G. B.; GRIEVE, C. M. Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by physiological characters. **Euphytica**, v.129, p.281-292, 2003.

ZHU, X.; FENGBIN, S.; HONGWEN, X. Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. **Mycorrhiza**, v. 20, n. 5, p. 325-332, 2010.

## CAPÍTULO II

### DESEMPENHO FOTOSSINTÉTICO EM CLONES DE EUCALIPTO CULTIVADOS EM SOLO SALINO

#### RESUMO

O trabalho teve o objetivo de avaliar o desempenho fotossintético de clones de eucalipto visando sua identificação quanto à tolerância a condições de estresse salino. O experimento foi disposto em delineamento em blocos casualizados com arranjo fatorial 3x4, com 5 repetições, totalizando 60 parcelas, onde utilizaram-se três clones de Eucalipto VC865, I224 e I144 e quatro concentrações de NaCl no solo: 0, 1, 2 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo. O clone I144 apresenta mecanismos de tolerância à salinidade do solo, como menor redução da condutância estomática, transpiração, fotossíntese, eficiência fotoquímica do PSII, teores de pigmentos fotossintéticos e massa seca total. Por outro lado, o clone I224 apresenta maior dano fisiológico o que indica maior sensibilidade ao estresse salino, enquanto VC865 demonstra sensibilidade moderada. Variáveis relacionadas ao desempenho fotossintético, como trocas gasosas, eficiência fotoquímica do PSII e pigmentos fotossintéticos são importantes como critério de tolerância ao estresse salino, podendo ser utilizadas para identificar clones de eucalipto tolerantes a essa condição.

**Palavras-chaves:** Estresse salino, fisiologia, híbridos, tolerância.

#### 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus*, possui espécies altamente produtivas e características energéticas, destacando-se na produção de matéria prima florestal de rápido crescimento e elevado rendimento, com diversas utilizações (SILVA et al., 2014) o qual ocupa uma área de 5,7 milhões de hectares de árvores plantadas no Brasil (IBÁ, 2017). Com o crescimento populacional e econômico mundial, a demanda energética vem aumentando, ao mesmo tempo em que há uma tendência de redução da oferta de derivados do petróleo, resultando em uma maior procura por novas fontes alternativas de energia, que venham substituir os combustíveis fósseis (VIEIRA et al., 2014a), entre essas, a biomassa tem ganhado maior destaque (GOLDEMBERG, 2009). Portanto, a madeira do eucalipto surge como uma boa alternativa de fonte para a produção de energia renovável, visto que o Brasil possui condições edafoclimáticas favoráveis ao cultivo desta espécie.

A utilização de áreas degradadas, tidas como impróprias para a agricultura pode resultar em um maior número de florestas plantadas, aumentando a economia industrial, e desenvolvendo culturas mais resistentes a estresses abióticos (LOPES et al., 2015). Neste contexto, a busca por maior produtividade no setor florestal tem incentivado as pesquisas que identifiquem materiais genéticos com maior produção e adaptabilidade às variações ambientais (VELLINI et al., 2008; LOPES et al., 2011; HARFOUCHE et al., 2014).

Dentre essas variações, é notório o crescimento mundial de áreas com solo salinizado, em consequência da agricultura irrigada, visto que em algumas regiões do mundo, principalmente regiões áridas e semiáridas, a baixa precipitação anual exige a prática da irrigação, a qual na maioria das vezes é realizada com água de qualidade inferior, o que resulta no acúmulo excessivo de sais na superfície do solo, principalmente o NaCl, prejudiciais para o crescimento e desenvolvimento das plantas (ASHRAF, 2004; PINHEIRO et al., 2008; SILVA et al., 2012; PLAZEK et al., 2013; BRITO et al., 2018).

A salinidade tornou-se um dos principais fatores que prejudicam o desenvolvimento das plantas em todo o mundo (PLAZEK et al., 2013; MUNNS; GILLIHAM, 2015), pois o excesso de sais no solo reduz a quantidade de água disponível para as plantas, além de promover efeito tóxico, devido a absorção de grande quantidade de íons, que irá acarretar na ruptura de membranas e organelas, causando desequilíbrio osmótico na célula (MUNNS; TESTER, 2008). Além dos efeitos diretos da salinidade nas plantas, ocorre a indução ao estresse hídrico, uma vez que o sódio em grandes concentrações no solo induz à deficiência hídrica, por inibir a absorção de água pela planta (PLAZEK et al., 2013).

O aumento de solutos nas raízes provoca uma redução na condutividade hidráulica, promovendo o déficit hídrico, o que irá ocasionar mudanças na morfologia, na bioquímica e na fisiologia dos vegetais e, conseqüentemente no rendimento (PRISCO; GOMES FILHO, 2010). Em condições de déficit hídrico as plantas fecham seus estômatos a fim de minimizar a perda de água através da transpiração (MEDEIROS et al., 2013). A eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II é prejudicada, e o crescimento e a capacidade fotossintética das plantas são reduzidos (SENGAR et al., 2013; KUMAR et al., 2014). Nessas condições, ocorre restrição da entrada de CO<sub>2</sub> em função da redução da condutância estomática, e essa redução promove queda nas taxas de transpiração e fotossíntese (BRITO et al., 2018).

Alguns estudos mostram diferentes tolerâncias de plantas à salinidade, dependentes da concentração de sal. Em diferentes genótipos de eucalipto cultivados em soluções salinas com condutividade elétrica de 7 a 14 dS m<sup>-1</sup>, a fotossíntese, condutância estomática e a produção de biomassa foram reduzidas (SIXTO et al., 2016), enquanto soluções salinas de 20 a 40 dS m<sup>-1</sup> foram letais (BHARGAVA et al., 2014). Semelhante, Pinheiro et al. (2008) trabalhando com mamona e Cavalcante et al. (2018) com pinhão manso, também encontraram reduções da condutância estomática, fotossíntese, pigmentos fotossintéticos, eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II e matéria seca total, nas plantas cultivadas em solo salinizado.

Deste modo, uma maneira simples de atenuar o problema da salinidade dos solos é estudar o comportamento fisiológico das plantas submetidas a essas condições, a fim de identificar materiais tolerantes à salinidade (MUNNS, 2005; AHMED et al., 2015). O método comumente usado para determinar a tolerância de plantas arbóreas à salinidade é o uso de água salina na irrigação (CAMPOS et al., 2012; HISHIDA et al., 2014). No entanto, estudos sobre as respostas fisiológicas de Eucalipto à salinidade no solo, são escassos. Diante do exposto, objetivou-se com este estudo avaliar o desempenho fotossintético de clones de eucalipto visando sua identificação quanto à tolerância a condições de estresse salino no solo.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no setor de Fisiologia Vegetal da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, localizada no município de Rio Largo-AL (09° 28' S, 35° 49' W e 127 m de altitude).

Utilizaram-se três clones de Eucalipto, escolhidos com base na área de plantio no estado de Alagoas. Assim, foram selecionados os clones VC865, I144 e I224 resultantes do processo de hibridação entre *E. grandis* com *E. urophylla*, classificados como tolerante, tolerante e moderadamente tolerante a seca, respectivamente (Muller et al., 2017).

Para a realização do experimento, foram utilizados vasos com capacidade de 20 L, os quais foram preparados seguindo-se recomendações contidas em Beltrão et al. (2002), onde foram pintados na cor cinza de modo a aumentar a reflectância e reduzir o aquecimento do substrato. O solo utilizado foi um Latossolo Areno-argiloso (Tabela 1),

o qual foi salinizado adicionando-se NaCl com base no peso seco, em quatro concentrações distintas: 0, 1, 2 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo. O material permaneceu incubado e mantido na capacidade de campo durante quatro meses, elevando-se a condutividade elétrica do solo de 2 (0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo-Controle) para 6, 10 e 12 dS m<sup>-1</sup> nas concentrações de 1, 2 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo, respectivamente. A condutividade elétrica do solo foi estimada conforme Richards (1954).

**Tabela 1.** Propriedades químicas e físicas do solo utilizado no experimento.

Características químicas																
pH	MO	P <sub>resina</sub>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	K	Ca	Mg	CTC	Na	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn	
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	Mg dm <sup>-3</sup>	-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----							%		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----				
4,6	27,5	26,5	---	4,0	0,85	1,65	1,05	7,55	0,35	47	0,27	0,25	100	1,3	0,5	
Características físicas																
Areia total				Argila				Silte				Classificação textural				
-----g Kg <sup>-1</sup> -----																
599				368				33				Areno argiloso				

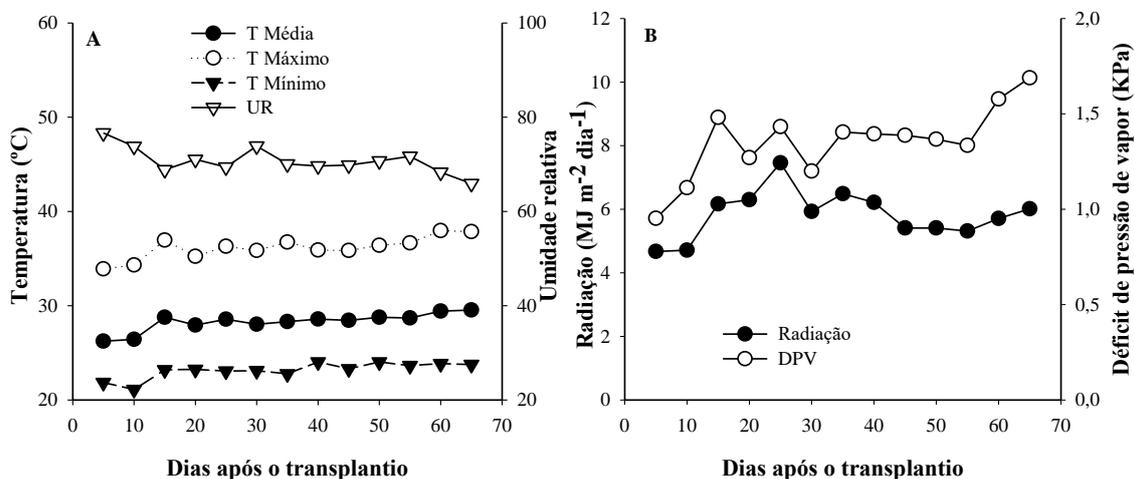
pH: potencial hidrogeniônico; MO: matéria orgânica; P: fósforo; Al<sup>3+</sup>: alumínio trocável; H: hidrogênio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; CTC: capacidade de troca catiônica; Na: sódio; V: saturação por bases; B: boro; Cu: cobre; Fe: ferro; Mn: manganês; Zn: zinco.

As mudas de Eucalipto foram adquiridas em viveiro comercial, localizado no município de Chã do Pilar – AL, as quais foram produzidas em tubetes pelo método de estaquia, e contavam com idade de 120 dias e tamanhos homogêneos. Em seguida as mudas foram transplantadas para sacos plásticos com capacidade para 750 g de solo, permanecendo nos mesmos durante 30 dias, quando então foram transplantadas para vasos contendo 20 kg de solo salinizado. As plantas foram irrigadas com água destilada, a fim de manter a umidade do solo sempre em capacidade de campo. Durante esse período, a água drenada era coletada e repostada através de coletores presentes nos vasos para manutenção da condutividade elétrica do solo.

O experimento foi disposto em delineamento em blocos casualizados com arranjo fatorial 3x4 sendo 3 clone e 4 concentrações salinas no solo, com 5 repetições, totalizando 60 parcelas, constituídas de uma planta por vaso.

Durante o período experimental as condições ambientais no interior da casa-de-vegetação, representadas pela temperatura média, máxima e mínima, umidade relativa média do ar, radiação média incidente e déficit de pressão de vapor do ar (Figura 1), foram registradas por uma estação meteorológica automática (DELTA-T Devices, Cambridge-England).

**Figura 1.** Temperaturas máxima, média e mínima do ar, Umidade relativa média do ar (A), Radiação média incidente e Déficit de pressão de vapor do ar (B) durante o período de estresse salino.



Aos 30 e 60 dias após o transplântio (DAT), foram realizadas as avaliações das trocas gasosas, eficiência fotoquímica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ), e índice relativo de clorofila SPAD, sendo que aos 60 DAT também foram avaliados os teores de pigmentos fotossintéticos.

As medidas de trocas gasosas foram realizadas em folhas completamente expandidas do terço médio das plantas, com um analisador de gás modelo Li-6400XT (Infra Red Gas Analyser – IRGA, Licor, EUA), no período entre 8:00h e 10:00h da manhã. Foram obtidas as variáveis de condutância estomática ( $g_s$ ), transpiração ( $E$ ), concentração interna de  $CO_2$  ( $C_i$ ), Fotossíntese líquida ( $A$ ), temperatura foliar ( $T_f$ ), déficit de pressão de vapor folha-ar (DPV folha-ar) e, eficiência instantânea de carboxilação ( $E_iC$ ), relacionando a fotossíntese líquida com a concentração interna de  $CO_2$  ( $A/C_i$ ).

A eficiência fotoquímica máxima do PSII foi avaliada no pré-amanhecer (4:30 h) e ao meio-dia (12:00 h) utilizando um fluorômetro portátil de luz modulada (PAM 2500, WALZ) seguindo os procedimentos propostos por Maxwell e Johnson (2000). Folhas completamente expandidas do terço médio das plantas, foram adaptadas ao escuro durante 30 minutos com o auxílio de cliques específicos colocados na parte intermediária da folha, evitando-se a nervura central.

O índice SPAD foi mensurado utilizando-se um clorofilômetro portátil modelo SPAD- 502, sendo aferidas cinco leituras em folhas totalmente expandidas do terço médio da planta, obtendo-se a média geral por planta.

Os teores de clorofila *a*, *b* e os carotenoides foram quantificados utilizando-se cinco discos de 0,6 cm<sup>2</sup> de folhas frescas da parte mediana da planta. Os mesmos foram picotados e acondicionados em tubos de vidro envolvidos com papel alumínio, contendo 5 mL de acetona 80%, acondicionados no escuro, à temperatura de 4 °C, durante 72 horas. Em seguida realizaram-se as leituras de absorvância dos extratos a 480, 645 e 663 nm de comprimento de onda, em espectrofotômetro, e calculados conforme Lichtenthaler (1987). Posteriormente foram calculados os teores de clorofila total (*a+b*).

Ao final do experimento as plantas foram coletadas e colocadas em estufa de circulação de ar a 65 °C até peso constante, obtendo-se a massa seca total (MST).

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo o fator salinidade do solo analisado por meio de regressão polinomial e o fator clone analisado pelo teste Tukey, com  $P < 0,05$ . A correlação de Pearson (*r*) foi utilizada para verificar a relação entre as variáveis fisiológicas analisadas dentro de cada condição salina.

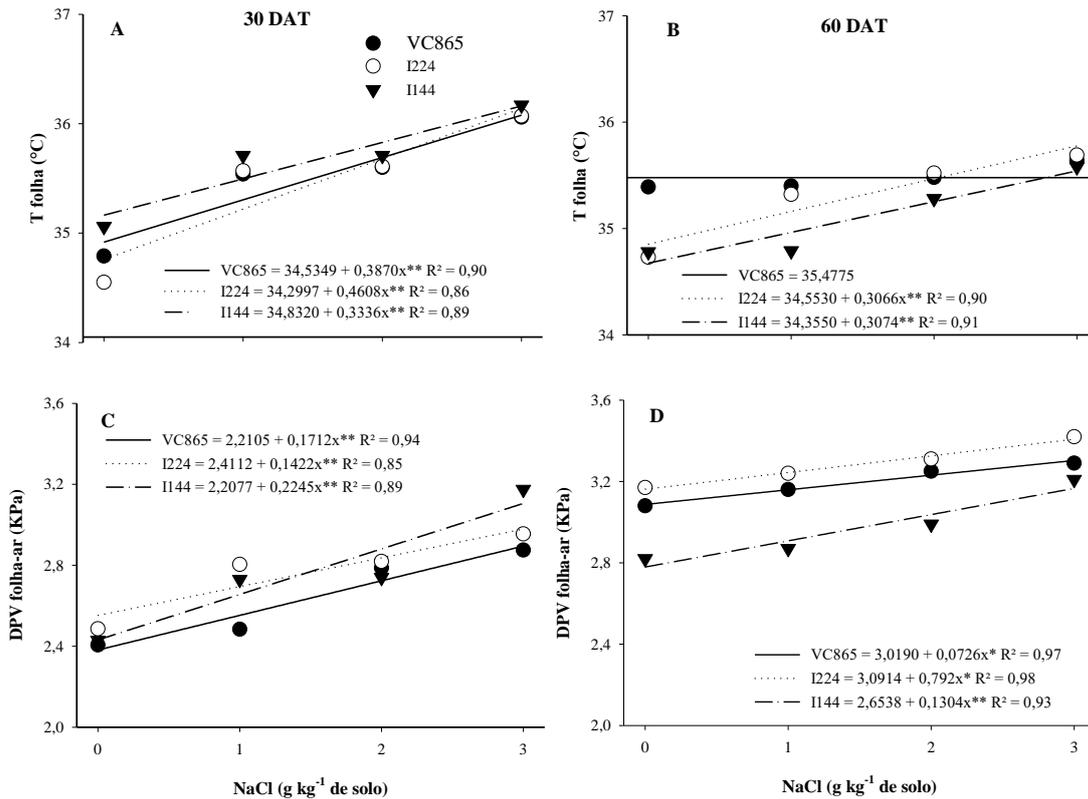
### 3. RESULTADOS

As variáveis de trocas gasosas foram afetadas pela salinidade do solo nos clones de eucaliptos estudados, tanto aos 30 quanto aos 60 dias após transplântio (DAT). A temperatura foliar (*T<sub>f</sub>*) aos 30 DAT aumentou em todos os clones estudados, com o incremento da salinidade do solo (Figura 2A). Os clones VC865, I224 e I144 aumentaram a temperatura foliar na concentração salina, de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo, quando comparado ao controle na ordem de 3,32; 3,97 e 2,84%, respectivamente (Figura 2A). Aos 60 DAT observou-se que o clone VC865 manteve a temperatura da folha constante, enquanto I224 e I144 aumentaram em 2,63 e 2,59%, respectivamente, para a maior concentração de NaCl no solo (Figura 2B).

Comportamento semelhante foi observado para o déficit de pressão de vapor folha-ar ( $DPV_{\text{folha-ar}}$ ), em que aos 30 DAT os clones VC865, I224 e I144 apresentaram aumentos de 21,56; 16,70 e 27,69%, respectivamente, do controle para o nível de salinidade de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> (Figura 2C). Já aos 60 DAT, os clones VC865, I224 e I144 apresentaram aumentos mais moderados de  $DPV_{\text{(folha-ar)}}$  7,05; 7,50 e 14,06%,

respectivos, em função da salinidade (Figura 2D). Aos 60 DAT o DPV<sub>(folha-ar)</sub> teve correlação inversa com a transpiração em todas as condições salinas estudadas (Tabela 2). Além disso, nesse mesmo período, o DPV<sub>(folha-ar)</sub> apresentou correlação inversa com gs nas plantas tratadas com as concentrações salinas de 1 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup>.

**Figura 2.** Temperatura foliar – T folha (A e B) e Déficit de pressão folha-ar - DPV(folha-ar) (C e D) aos 30 e 60 dias após o transplante em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



\* e \*\*: significativo p<0,05 e 0,01, respectivamente.

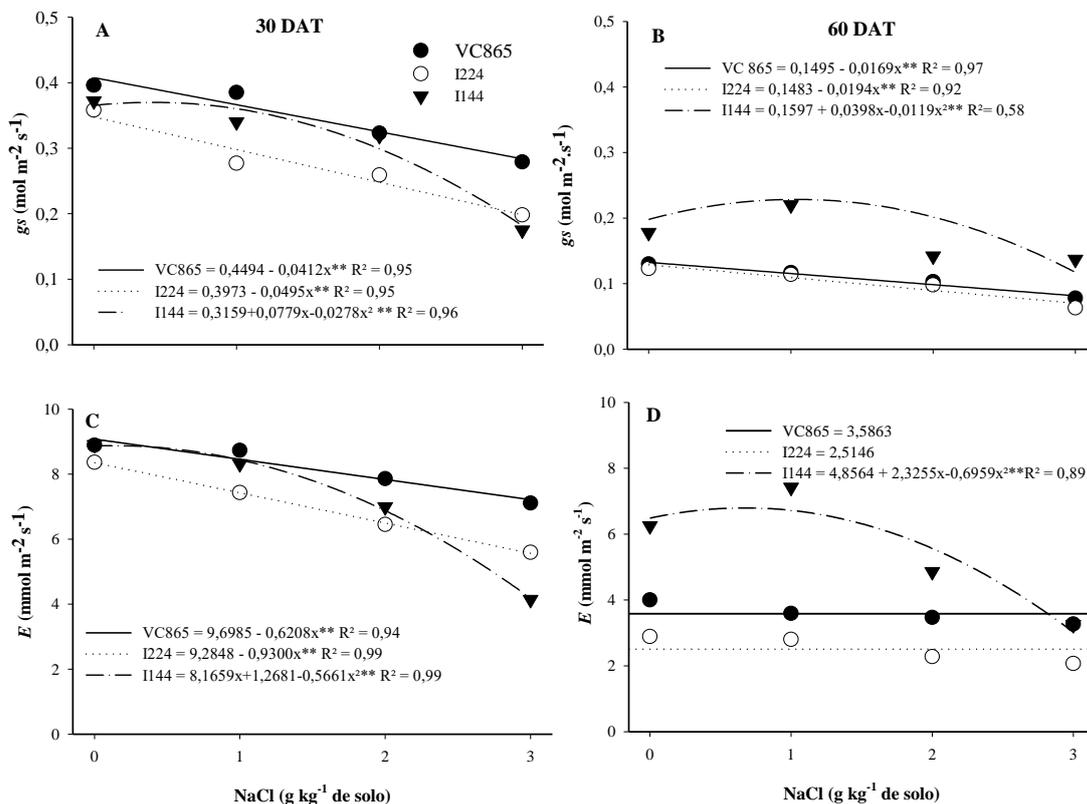
**Tabela 2.** Correlação de Pearson entre características fisiológicas aos 60 dias após o transplante em clones de eucalipto cultivados em diferentes salinidades do solo.

S	Var	DPV	Gs	E	Ci	A	EiC	Fv/Fm	Chl a	Chl b	Chl T	Carot	MST
0	Tf	0,12	-0,26	-0,08	0,10	0,24	0,24	-0,51	-0,26	-0,07	-0,24	-0,32	-0,69
	DPV		-0,69	-0,90	-0,19	-0,62	-0,61	0,20	-0,21	0,41	0,08	-0,63	-0,28
	gs			0,75	-0,06	0,75	0,78	-0,20	0,15	-0,50	-0,18	0,57	0,49
	E				0,04	0,69	0,72	-0,24	0,11	-0,29	-0,09	0,46	0,30
	Ci					0,33	0,20	-0,11	0,03	0,21	0,15	0,00	-0,39
	A						0,98	-0,35	0,03	-0,26	-0,12	0,41	-0,09
	EiC							-0,33	0,02	-0,28	-0,15	0,41	-0,06
	Fv/Fm								0,23	0,48	0,46	-0,01	0,05
	Chl a									0,10	0,80	0,55	0,15
	Chl b										0,67	-0,41	-0,40
	Chl T											0,16	-0,12
	Carot												0,23
	1	Tf	0,68	-0,75	-0,73	-0,58	-0,70	-0,65	-0,44	-0,42	0,15	-0,28	-0,39
DPV			-0,86	-0,68	-0,61	-0,70	-0,67	-0,51	0,05	0,53	0,21	-0,21	-0,19
gs				0,86	0,62	0,84	0,82	0,61	0,04	-0,38	-0,08	0,47	0,43
E					0,62	0,98	0,97	0,63	0,12	-0,05	0,08	0,57	0,43
Ci						0,66	0,54	0,76	0,03	-0,25	-0,05	0,23	0,24
A							0,98	0,63	0,00	-0,12	-0,03	0,45	0,31
EiC								0,56	-0,00	-0,08	-0,03	0,46	0,29
Fv/Fm									0,23	0,01	0,19	0,57	0,48
Chl a										0,57	0,96	0,52	0,60
Chl b											0,76	0,27	0,21
Chl T												0,49	0,54
Carot													0,89
2		Tf	0,45	-0,36	-0,38	0,18	-0,42	-0,42	-0,10	-0,29	-0,31	-0,31	-0,46
	DPV		-0,50	-0,77	0,37	-0,54	-0,54	-0,55	-0,52	-0,39	-0,51	-0,62	-0,66
	gs			0,67	-0,10	0,65	0,62	0,58	0,20	0,26	0,22	0,78	0,60
	E				-0,29	0,76	0,74	0,64	0,21	0,21	0,22	0,72	0,52
	Ci					-0,44	-0,55	-0,30	-0,33	-0,25	-0,32	-0,31	-0,36
	A						0,99	0,66	0,35	0,38	0,38	0,74	0,62
	EiC							0,65	0,37	0,39	0,40	0,74	0,62
	Fv/Fm								0,09	0,21	0,13	0,74	0,53
	Chl a									0,78	0,98	0,30	0,62
	Chl b										0,88	0,34	0,61
	Chl T											0,33	0,65
	Carot												0,83
	3	Tf	0,44	-0,23	-0,21	-0,05	-0,13	-0,12	0,02	-0,34	0,20	-0,17	-0,08
DPV			-0,69	-0,53	0,04	-0,59	-0,57	-0,27	-0,48	-0,12	-0,41	-0,27	-0,56
gs				0,42	-0,29	0,79	0,78	0,53	0,43	0,32	0,45	0,57	0,77
E					0,02	0,38	0,35	0,10	0,06	-0,20	-0,03	0,13	0,46
Ci						-0,45	-0,52	-0,35	0,14	-0,29	-0,01	-0,35	-0,39
A							0,99	0,62	0,43	0,35	0,46	0,64	0,89
EiC								0,63	0,41	0,36	0,45	0,65	0,89
Fv/Fm									0,57	0,68	0,70	0,78	0,76
Chl a										0,45	0,93	0,67	0,58
Chl b											0,75	0,49	0,42
Chl T												0,70	0,60
Carot													0,83

S: salinidade do solo; Var.: variáveis; Tf: temperatura foliar; DPV: Déficit de pressão de vapor folha-ar; gs: condutância estomática, E: transpiração; Ci: concentração interna de CO<sub>2</sub>; A: fotossíntese; EiC: eficiência de carboxilação; Fv/Fm: Eficiência máxima do PSII ao meio-dia; Chl a: clorofila a; Chl b: Clorofila b; Chl t: clorofila total; Carot: carotenoides; MST: massa seca total. Número azuis (Correlação positiva) e vermelhos (correlação negativa): significativo a P<0,05.

Os clones apresentaram redução da condutância estomática e transpiração em ambas às épocas avaliadas, com o aumento da concentração de sal no solo. Aos 30 DAT, os clones VC865, I224 e I144 tiveram reduções na  $g_s$  de 30,33; 42,76 e 46,59%, respectivamente, com o aumento da salinidade do solo até a concentração de 3 g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$  (Figura 3A). Já aos 60 DAT, o clone I144 aumentou a condutância estomática até o valor de 1,67g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$  de solo, apresentando menor  $g_s$  na concentração de 3 g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$ , quando comparado aos demais clones. Enquanto que, os clones VC865 e I224 tiveram decréscimos de  $g_s$  de 38,26 e 40,52%, respectivamente, no maior nível de salinidade do solo (Figura 3B).

**Figura 3.** Condutância estomática -  $g_s$  (A e B) e transpiração -  $E$  (C e D) aos 30 e 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



\*\* : significativo  $p < 0,01$ .

Em relação à transpiração ( $E$ ), observou-se que aos 30 DAT os clones VC865, I224 e I144 tiveram decréscimos de 20,51; 33,39 e 49,68%, respectivamente, a medida em que se aumentou a concentração de NaCl no solo (Figura 3C). Aos 60 DAT, houve aumento de  $E$  no clone I144 com o aumento da salinidade até 1,67g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$  de

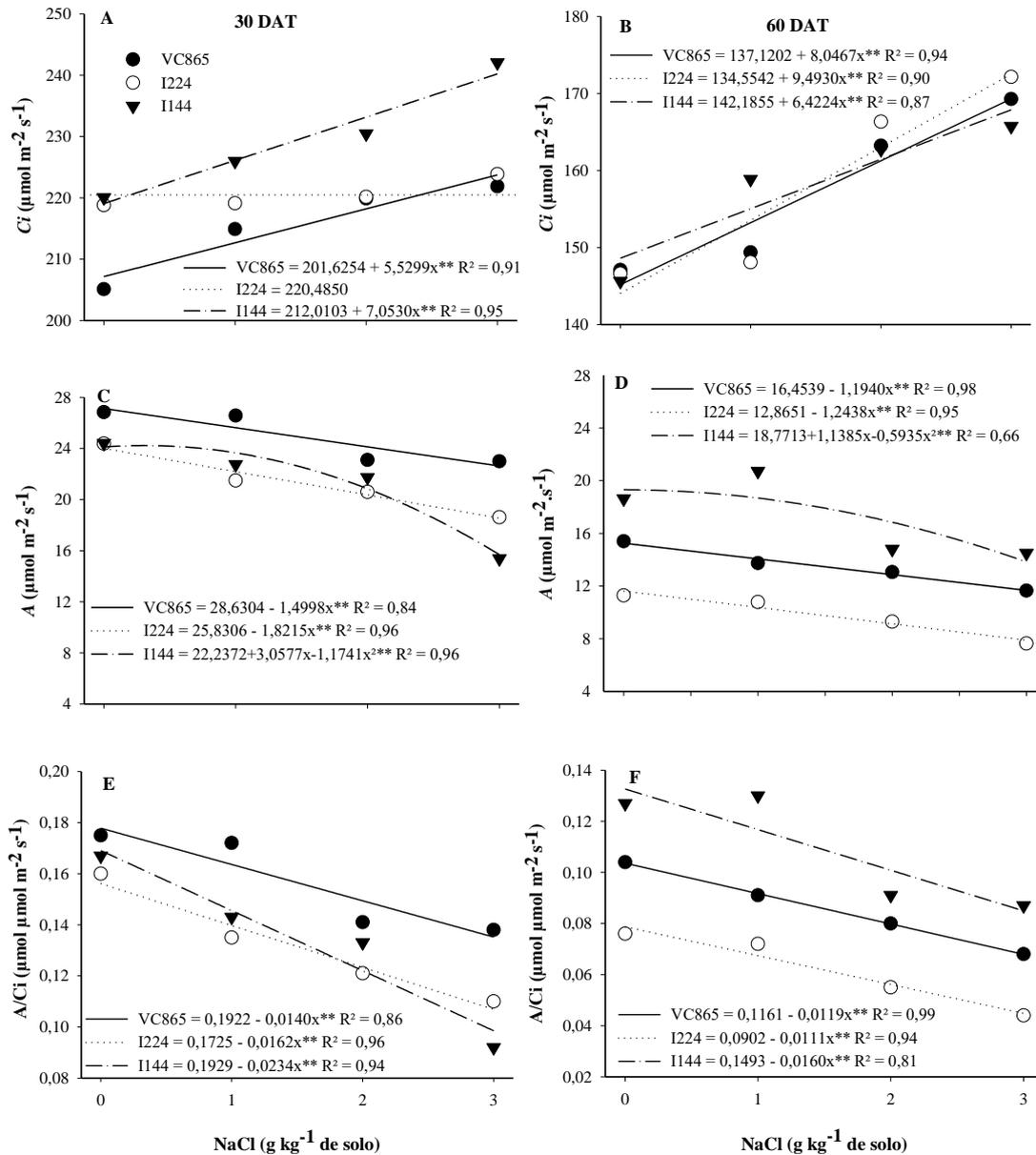
solo, havendo decréscimo a partir dessa concentração, de modo semelhante à *gs*. Por outro lado, os clones VC865 e I224 não apresentaram alterações em *E* com o aumento da salinidade do solo, nesta época de avaliação (Figura 3D). Entre a concentração zero a 2 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo foi observado correlação positiva de *gs* e *E* (Tabela 2).

A concentração interna de CO<sub>2</sub> aos 30 DAT aumentou nos clones VC865 e I144 com acréscimos de 8,08 e 09,65%, respectivamente, com o incremento da salinidade do solo, enquanto que o clone I224 não foi afetado pela salinidade (Figura 4A). Já aos 60 DAT, os clones VC865, I224 e I144 sob estresse salino máximo, apresentaram aumento mais significativo de *C<sub>i</sub>* da ordem de 16,62; 19,77 e 12,96%, respectivamente (Figura 4B).

Semelhante à *gs* e *E*, a taxa fotossintética dos clones reduziu com o aumento da salinidade do solo. Os clones VC865, I224 e I144 aos 30 DAT apresentaram reduções de 16,58, 22,76 e 33,36%, respectivamente (Figura 4C). Já aos 60 DAT, o clone I144 apresentou aumento na taxa fotossintética nas concentrações de estresse salino moderado (até 0,96g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo), porém níveis maiores de concentração salina provocaram seu decréscimo. Por outro lado, *A* foi progressivamente reduzida pela salinidade nos clones VC865 e I224 em 23,47 e 32,10%, respectivamente (Figura 4D). Com o aumento da salinidade do solo até a concentração 2 g de NaCl kg<sup>-1</sup> verificou-se correlação positiva de *A* com *gs* e *E*, porém não sendo observado correlação no maior nível de salinidade (Tabela 2).

A eficiência de carboxilação (EiC) foi reduzida em todos os clones com o aumento da salinidade do solo, em ambas as épocas estudadas. Os clones VC865, I224 e I144 aos 30 DAT apresentaram decréscimos de EiC de 23,68; 31,15 e 41,41%, respectivamente (Figura 4E), enquanto aos 60 DAT esses decréscimos foram de 34,35; 42,35 e 33,15%, respectivamente (Figura 4F). EiC apresentou forte correlação positiva com *A* em todos os níveis de salinidade do solo (Tabela 2).

**Figura 4.** Concentração interna de CO<sub>2</sub> - Ci (A e B), fotossíntese - A (C e D) e Eficiência de carboxilação - EiC (E e F) aos 30 e 60 dias após o transplante em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



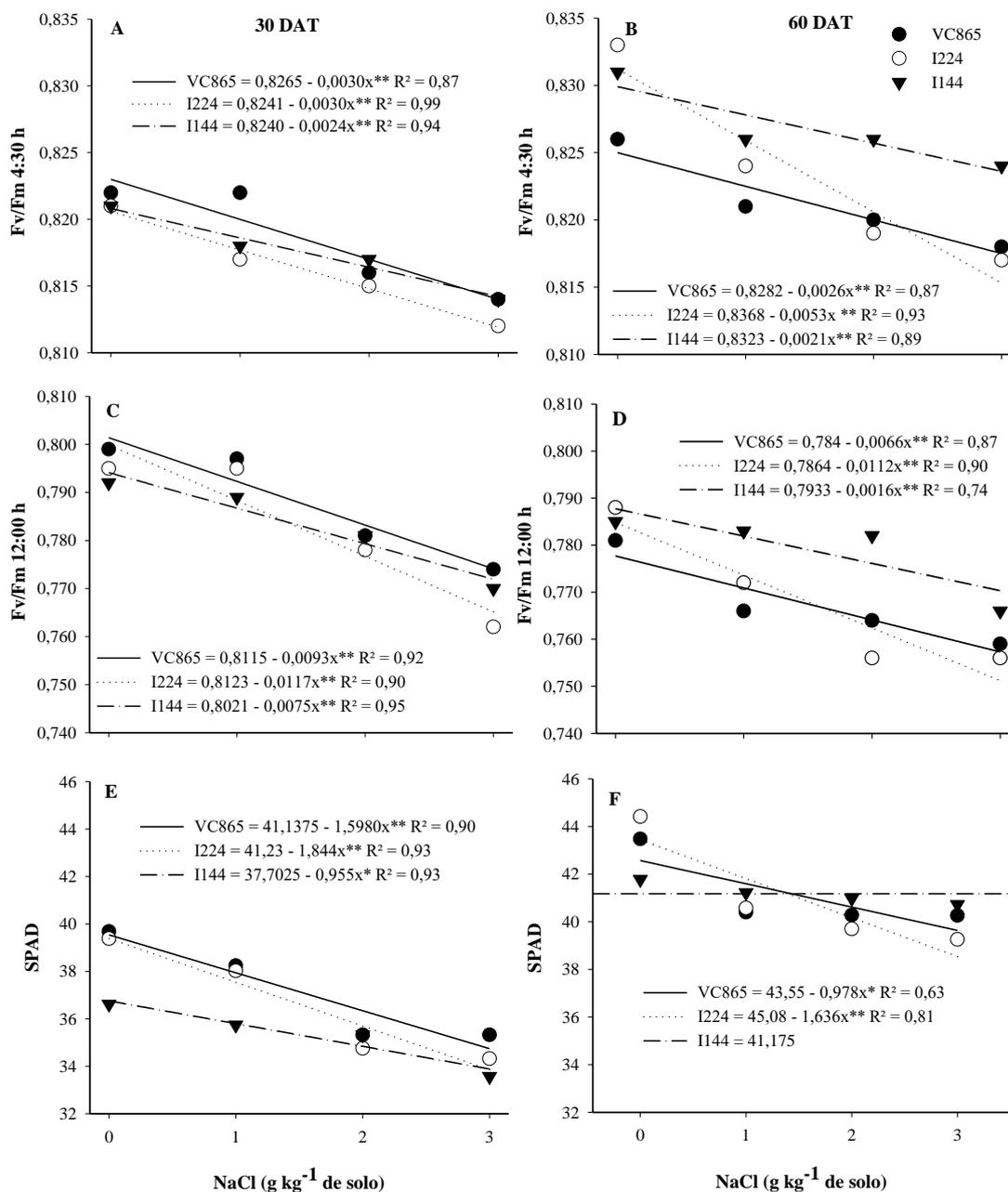
\*\* : significativo  $p < 0,01$ .

A eficiência fotoquímica máxima do PSII (Fv/Fm) ao amanhecer reduziu nos clones de eucalipto a medida que aumentou a salinidade do solo, tanto aos 30 quanto aos 60 DAT, sendo que na primeira época de avaliação, os clones VC865, I224 e I144 apresentaram decréscimos de 1,13; 1,12 e 0,87%, respectivamente, do menor para o maior nível de salinidade do solo (Figura 5A), enquanto aos 60 DAT esses decréscimos foram de 0,98; 1,92 e 0,77%, respectivamente (Figura 5B).

Ao meio-dia os decréscimos de Fv/Fm nos clones de eucalipto provocados pela salinidade foram um pouco maiores. Os clones VC865, I224 e I144 aos 30 DAT apresentaram redução na ordem de 3,49; 4,38 e 2,86%, respectivamente (Figura 5C). Já aos 60 DAT, os decréscimos foram de 2,58; 4,27 e 2,14% para os respectivos clones (Figura 5D).

Pode-se constatar ainda, que o clone I144 apresentou aos 60 DAT valores maiores na razão Fv/Fm de 0,826 as 4:30h e 0,788 as 12:00 quando comparado aos demais clones no maior nível de concentração salina. O Fv/Fm apresentou correlação positiva com Chl *a*, Chl *b*, Chl T e Carot em plantas na concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo (Tabela 2).

**Figura 5.** Eficiência fotoquímica máxima do PSII - Fv/Fm, ao amanhecer (A e B) e ao meio-dia (C e D) e índice relativo de clorofila - SPAD (E e F) aos 30 e 60 dias após o transplante em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



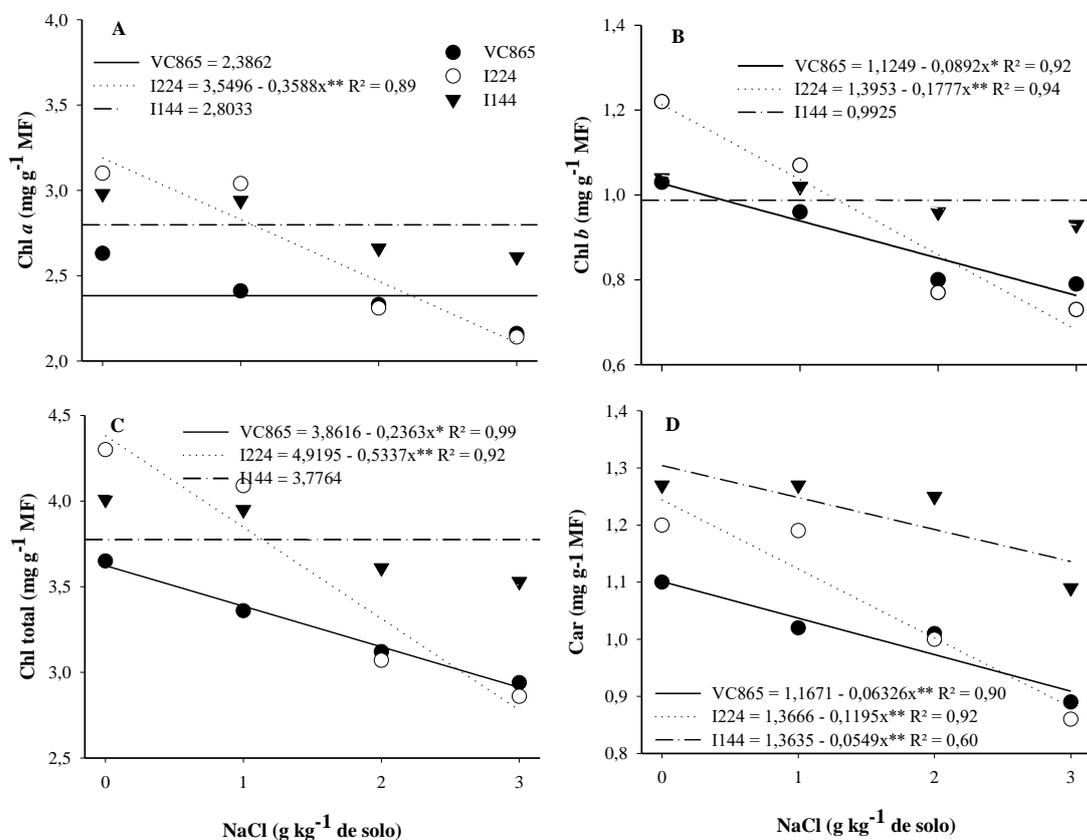
\* e \*\*: significativo  $p < 0,05$  e  $0,01$ , respectivamente.

O índice relativo de clorofila (SPAD) nos clones VC865, I224 e I144 aos 30 DAT, reduziu com o aumento da concentração salina no solo, havendo decréscimos de 12,12; 14,04 e 7,79%, respectivamente, comparando a menor com a maior salinidade (Figura 5E). Aos 60 DAT, a salinidade provocou decréscimos de SPAD em VC865 e I224 de 6,89 e 11,29%, respectivamente, enquanto I144 não foi afetado (Figura 5F).

Os pigmentos fotossintéticos, determinados apenas aos 60 DAT, foram afetados pela salinidade do solo, variando entre os clones. A clorofila *a* reduziu 33,74% em I224, do menor para o maior nível de salinidade do solo, enquanto os demais clones não foram afetados (Figura 6A). O teor de clorofila *b* nos clones VC865 e I224 decresceu 25,85 e 43,80%, respectivamente, do menor para o maior nível de salinidade, enquanto se manteve estável em I144 (Figura 6B), o qual também apresentou pouca variação nos teores de Chl T com o incremento da salinidade. Porém, houve reduções nos clones VC865 e I224 de 19,56 e 36,50%, respectivamente (Figura 6C).

Os carotenoides reduziram com o incremento da salinidade em VC865, I224 e I144, na ordem de 17,19; 28,74 e 12,58%, respectivamente (Figura 6D). Além disso, pode-se notar que o clone I144 apresentou maiores teores de Chl T e carotenoides, quando comparado aos demais clones na maior concentração de salinidade no solo. Observou-se alta correlação entre as clorofilas *a* e *b* com a Chl T em todos os níveis salinos (Tabela 2). Do mesmo modo, pode-se observar correlação positiva entre Chl T e carotenoides na concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo.

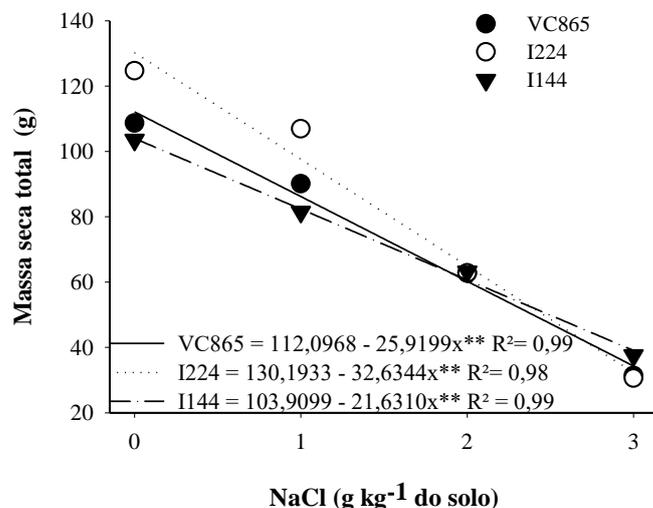
**Figura 6.** Clorofila a (A), b (B), total (C) e carotenoides (D) aos 60 dias após o transplante em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



\* e \*\*: significativo p<0,05 e 0,01, respectivamente.

A massa seca total (MST) também foi afetada pelo aumento da salinidade no solo, em todos os clones (Figura 7). Foram observadas reduções em VC865, I224 e I144 de 69,37; 75,20 e 62,45%, respectivamente. Esta variável apresentou correlação inversa com a Tf e o DPV (folha-ar), bem como correlação positiva com  $g_s$ , A, EiC, Fv/Fm, Chl a, Chl T e carotenoides, nas duas maiores concentrações salinas no solo.

**Figura 7.** Massa seca total aos 60 dias após o transplântio em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



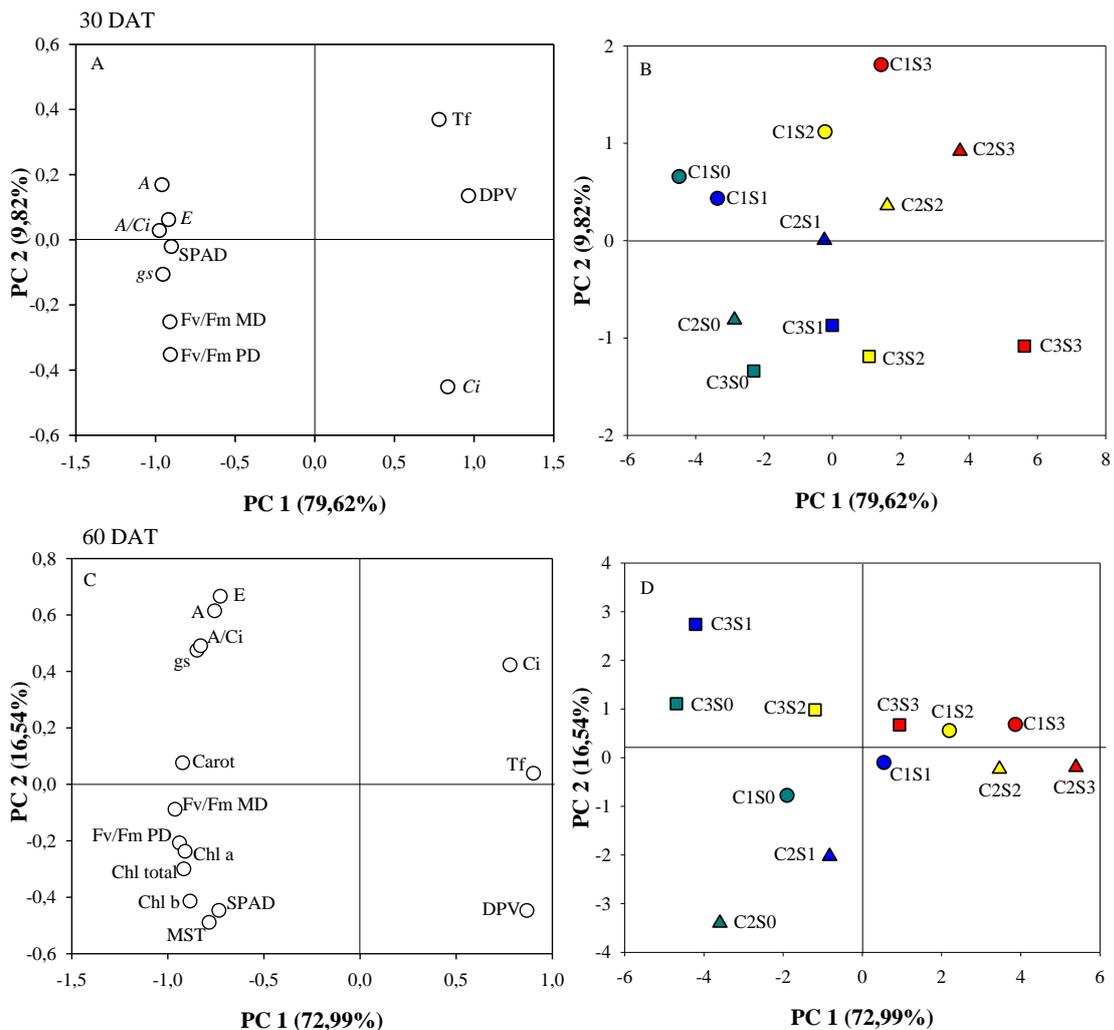
\*\* : significativo  $p < 0,01$ .

Aos 30 dias após o transplântio a Tf, o DPV e Ci contribuíram positivamente para a formação do PC1, o qual teve uma variação de 79,62%, enquanto *gs*, *E*, *A*, *A/Ci*, SPAD e Fv/Fm PD e MD contribuíram negativamente. No entanto o PC2 que teve uma variação de 9,82% e associou-se positivamente com *E*, *A*, *A/Ci*, Tf e DPV e negativamente com *gs*, *Ci*, SPAD e Fv/Fm PD e MD (Figura 8A). As variáveis favorecidas pela baixa salinidade foram posicionadas do lado esquerdo do gráfico, e as que se correlacionaram positivamente com a alta salinidade estão posicionadas do lado direito do gráfico (Figura 8A), ou seja, quando a salinidade do solo aumentou, O Ci, Tf e DPV também aumentaram. Ainda observou-se nessa época um maior distanciamento do C3S3 do eixo principal, indicando que o aumento do DPV e da concentração interna de CO<sub>2</sub> promoveram maior dano a esse clone quando submetido à alta salinidade (Figura 8B).

Semelhante ao ocorrido na primeira época, aos 60 DAT, todas as variáveis estudadas contribuíram negativamente para a formação do fator 1, exceto Ci, Tf e DPV que contribuíram positivamente, com variação de PC1 de 72,99%. Já o PC2 teve uma variação de 16,54%, onde *gs*, *E*, *A*, *A/Ci*, Carot, Ci e Tf contribuíram positivamente para a formação desse fator, e Fv/Fm PD e MD, Chl a, b e total, SPAD, MST e DPV negativamente (Figura 8C). Nesta época observou-se que os Clones VC865(C1) e I224 (C2) foram os mais afetados pela alta salinidade do solo (S3), onde observa-se que o

aumento de Ci, Tf e DPV promoveram maiores danos a esses clones sob alta salinidade (8D). Já o I144 (C3) sob alta salinidade (S3) nessa época mostrou uma maior aproximação do eixo principal, ou seja, uma menor correlação com o Ci, Tf e DPV, sugerindo uma possível adaptação deste clone à salinidade do solo, com maior tempo de exposição a essa condição.

Figura 8. Análise de componentes principais aplicada em três clones de eucalipto: VC865 (C1), I224 (C2) e I144 (C3) submetidos a quatro salinidades do solo: 0 (S1), 1 (S2), 2 (S3) e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo (S4), medidas em duas épocas: 30 (A, B) e 60 dias após o transplântio. PC1 e PC2 representam a projeção das variáveis (A, C) e a distribuição dos tratamentos (B, D). Variáveis: Temperatura da folha (Tf), Déficit de pressão de vapor (DPV), Concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci), Fotossíntese (A), Transpiração (E), Condutância estomática (gs), Eficiência instantânea de carboxilação (A/Ci), Índice SPAD, Eficiência fotoquímica máxima do PSII ao amanhecer (Fv/Fm PD) e meio-dia (Fv/Fm MD), clorofilas a (Chl a), b (Chl b) e total (Chl total), carotenoides (Carot) e massa seca total (MST).



#### 4. DISCUSSÃO

Nesse estudo foram verificados aumentos do  $DPV_{(folha-ar)}$  e temperatura foliar com o aumento da salinidade do solo, em especial no clone I224, demonstrados pela análise de componentes principais, observados aos 60 DAT em que o  $DPV_{(folha-ar)}$  foi a variável que mais contribuiu para o agrupamento das plantas desse clone na maior salinidade do solo. Nessa época, as menores taxas de  $DPV_{(folha-ar)}$  e  $T_f$  foram observadas no clone I144, indicando uma possível aclimação dessas plantas ao estresse salino, já que aos 30 DAT, esse clone tinha demonstrado maior sensibilidade a alta salinidade do solo, como visto na análise de componentes principais nessa mesma época. Segundo Vieira et al. (2014b), a temperatura foliar reduz a medida em que a transpiração aumenta, em função da dissipação de energia em forma de calor latente, contribuindo para o resfriamento foliar.

Além disso, os clones de eucalipto submetidos ao estresse salino apresentaram correlação inversa entre  $DPV_{(folha-ar)}$  com condutância estomática e transpiração. Em que o aumento do  $DPV_{(folha-ar)}$  possivelmente influenciou no fechamento estomático e na redução da transpiração provavelmente em decorrência da baixa disponibilidade hídrica presente no solo salino (PINHEIRO et al., 2008; SANTOS et al., 2017).

Sob condições salinas há um aumento no fechamento estomático da planta a fim de evitar a perda de água por transpiração, restringindo desse modo a sua capacidade fotossintética, como consequência da redução na absorção de  $CO_2$  (PINHEIRO et al., 2008; COSCOLIN et al., 2011; KUMAR et al., 2014). Essa informação pode ser confirmada pela correlação positiva entre condutância estomática, transpiração e fotossíntese constatada entre os clones neste estudo, em que as plantas provavelmente estavam sob estresse hídrico em resposta a alta salinidade do solo, o que levou ao fechamento parcial dos estômatos, diminuição da transpiração e queda acentuada da taxa de fotossíntese. Portanto, o estresse salino normalmente está relacionado ao estresse hídrico, visto que grandes concentrações de sódio no solo promovem restrição na absorção de água pelas plantas (PLAZEK et al., 2013).

As respostas fotossintéticas das plantas à salinidade são complexas, visto que são dependentes do tempo e da concentração de sais a que estão submetidas (CHAVES et al., 2009), como observado nesse estudo, em que I144 aumentou a sua condutância estomática, transpiração e fotossíntese quando exposto a uma salinidade leve (1,67g de NaCl  $kg^{-1}$  de solo) principalmente aos 60 DAT, demonstrando desempenho

fotossintético superior aos demais clones, apesar de também reduzir com o aumento da salinidade do solo. Essa condição, provavelmente, indica a possível aclimação de I144 ao estresse salino, já que nos demais clones ocorreram reduções mais acentuadas de  $g_s$ ,  $E$  e  $A$ , notadamente em I224, sugerindo ser o clone mais sensível ao estresse salino.

Bhargava et al. (2014) e Sixto et al. (2016) trabalhando com eucalipto sob estresse salino, observaram que a salinidade afetou as trocas gasosas, promovendo reduções dessas. De modo semelhante, estudos feitos com cajueiro-anão (BEZERRA et al., 2003), mamona (PINHEIRO et al., 2008) e pinhão-manso (CAVALCANTE et al., 2018) cultivados em solo salino, também confirmam que as trocas gasosas são afetadas negativamente pela salinidade, assim como observado entre os clones de eucalipto. As reduções nas trocas gasosas, ocasionadas pelo estresse salino, levam a diminuição da produção de biomassa, o que pode ser confirmado pelas correlações de  $g_s$ ,  $A$  e  $EiC$  com a MST, nas maiores concentrações salinas. De fato, a produção de biomassa é reduzida como consequência da menor assimilação de  $CO_2$ , como verificado também em plantas de eucalipto (SIXTO et al., 2016) e pinhão manso (CAVALCANTE et al., 2018) sob estresse salino.

O aumento da concentração interna de  $CO_2$  com o aumento do estresse salino nos clones de eucalipto, possivelmente, está relacionado à fatores não estomáticos de redução da fotossíntese, como por exemplo, redução da atividade e concentração da rubisco e redução nos produtos finais da fase fotoquímica da fotossíntese, ATP e NADPH (GRASSI; MAGNANI, 2005). Nessa situação de estresse, a planta não consegue consumir o  $CO_2$  saturado, uma vez que é esperado que ocorra redução na concentração interna de  $CO_2$  com decréscimo na condutância estomática, caso o aparato fotossintético não seja danificado pela salinidade (KALAJI et al., 2011). O aumento desta variável pode ser um importante indicativo de sensibilidade ao estresse salino, como visto pela análise de componentes principais, em que a concentração interna de  $CO_2$  teve maior contribuição para o agrupamento das plantas dos clones VC865 e I224 no maior nível de salinidade do solo.

A eficiência de carboxilação reduziu de acordo com a queda da fotossíntese em clones de eucalipto sob altas concentrações de salinidade, como verificada na correlação positiva entre essas variáveis, destacando-se o clone I224 que apresentou maiores reduções de  $EiC$  e  $A$ . A redução da  $EiC$  significa a ocorrência de dano metabólico que pode estar relacionado à queda na atividade da enzima Rubisco, envolvida no processo de fixação de  $CO_2$  e outras enzimas relacionadas à fotossíntese (ASHRAF; HARRIS,

2013). Contudo, o clone I144 foi mais eficiente na carboxilação, ou seja, foi o que teve menores prejuízos na fixação de CO<sub>2</sub> pelo estresse salino.

O Fv/Fm reduziu em todos os clones com o aumento da salinidade do solo, contudo essas reduções foram expressivamente pequenas. As plantas estressadas apresentaram valores de Fv/Fm superiores a 0,75, sugerindo que o aparato fotossintético não foi danificado pela salinidade do solo, uma vez que a variação de Fv/Fm entre 0,75 e 0,85 indica a integridade do aparelho fotossintético, com ausência de dano fotoinibitório no fotossistema II (BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989). No entanto, I144 destacou-se com os maiores valores de Fv/Fm, sugerindo ser mais tolerante à salinidade do solo, indicado pela maior integridade do aparato fotossintético nessa situação de estresse.

Em estudo com cultivares de cevada sob condições salinas, a razão Fv/Fm reduziu com o aumento da salinidade, com menor intensidade na cultivar mais tolerante (KALAJI et al., 2011), constatado também em pinhão manso em que a salinidade do solo reduziu Fv/Fm, principalmente nas horas mais quentes do dia (CAVALCANTE et al., 2018). Nesse sentido, a eficiência fotoquímica máxima do PSII é bastante eficiente como indicador de perturbações no aparato fotossintético, causados pela salinidade do solo (KALAJI et al., 2011, CAVALCANTE et al., 2018), visto que baixos valores de Fv/Fm são considerados como resposta de sensibilidade ao estresse (KALAJI et al., 2011).

De modo geral, os clones de eucalipto apresentaram redução no índice SPAD e nos pigmentos fotossintetizantes como efeito negativo da salinidade do solo. Contudo, o clone I144 foi menos afetado, pois conseguiu manter maiores teores de clorofilas mesmo sob estresse salino, indicando maior tolerância. Já os clones VC865 e I224 tiveram decréscimos das clorofilas e índice SPAD, com o aumento de NaCl no solo. Esses resultados podem ser atribuídos ao efeito iônico do Na, o qual promove deficiência de alguns nutrientes fundamentais para o metabolismo da clorofila (GOMATHI; THANDAPANI, 2005; Sá et al., 2015).

A degradação das clorofilas também indica perturbações fotoquímicas no complexo coletor de luz e nos centros de reação do PSII, ocasionadas pela salinidade (BHARGAVA et al., 2014; CAVALCANTE et al., 2018), o que pode ter ocorrido nos clones VC865 e I224. A redução nos teores de clorofilas causada pelo estresse torna-se um dos principais fatores limitantes da atividade fotossintética, por refletir diretamente na eficiência máxima do PSII (SANTOS; SILVA, 2015), como observado em pinhão

manso, em que a salinidade do solo reduziu os teores de clorofila, bem como a fotossíntese e a eficiência máxima do fotossistema II (CAVALCANTE et al., 2018). Portanto, as clorofilas têm sido frequentemente utilizadas para identificar danos no sistema fotossintético das plantas que são causados por salinidade do solo, sendo sua degradação um indicativo de bloqueio ou redução da atividade fotoquímica (SANTOS; SILVA, 2015, CAVALCANTE et al., 2018).

O clone I144 também apresentou menor redução do teor de carotenoides em relação a VC865 e I224, com o aumento da salinidade do solo, indicando que a maior estabilidade de Fv/Fm naquele clone pode ser devido à fotoproteção promovida pelos carotenoides, como observado pela correlação entre essas variáveis. Ressalta-se que a degradação desses pigmentos interfere na fotoproteção exercida pela planta, aumentando as chances de fotoxidação sob condições de estresse (SILVA et al., 2014, SANTOS; SILVA, 2015), sendo assim, plantas que mantem os carotenoides possuem maior tolerância ao estresse. Além disso, a redução dos pigmentos junto aos distúrbios do PSII, pela redução do Fv/Fm, leva a diminuição da MST, visto as correlações entre essas variáveis, notadamente quando as plantas estavam estressadas.

## 5. CONCLUSÃO

Em conclusão, o clone I144 apresenta mecanismos de tolerância à salinidade do solo, como menor redução da condutância estomática, transpiração, fotossíntese, eficiência fotoquímica do PSII, teores de pigmentos fotossintéticos e massa seca total. Por outro lado, o clone I224 apresenta maior dano fisiológico o que indica maior sensibilidade ao estresse salino, enquanto VC865 demonstra sensibilidade moderada. Variáveis relacionadas ao desempenho fotossintético, como trocas gasosas, eficiência fotoquímica do PSII e pigmentos fotossintéticos são importantes como critério de tolerância ao estresse salino, podendo serem utilizadas para identificar clones de eucalipto tolerantes a essa condição.

## 6. REFERÊNCIAS

AHMED, I. M.; NADIRA, U. A.; BIBI, N.; CAO, F.; HE, X.; ZHANG, G.; WU, F. Secondary metabolism and antioxidants are involved in the tolerance to drought and salinity, separately and combined, in Tibetan wild barley. **Environmental and Experimental Botany**, v. 111, p. 1-12, 2015.

ASHRAF, M. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 199, n. 5, p. 361-376, 2004.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v. 51, n. 2, p. 163-190, 2013.

BELTRÃO, N. E. M.; FIDELES FILHO, J.; FIGUEIRÊDO, I. C. M. Uso adequado de casa-de vegetação e telados na experimentação agrícola. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 3, p. 547-552, 2002.

BEZERRA, M. A.; OLIVEIRA, R. D.; LACERDA, C. D.; PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Fotossíntese de plantas de cajueiro-anão precoce submetidas ao estresse salino. **Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture**. p. 149-152, 2003.

BHARGAVA, K. M.; SINGH, A.; KUMAR, A. Seasonal variation in physiology of *Eucalyptus* genotypes in relation to soil salinity. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, p. 281-290, 2014.

BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIDER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrument. **Functional Ecology**, p. 497-514, 1989.

BRITO, M. E.; SOARES, L. A.; SOARES FILHO, W. S.; FERNANDES, P. D.; SILVA, E. C.; SÁ, F. V.; SILVA, L. A. Emergence and morphophysiology of Sunki mandarin and other citrus genotypes seedlings under saline stress. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 1, p. 0801, 2018.

CAVALCANTE, P. G. S.; SANTOS, C. M.; WANDERLEY FILHO, H. C. L.; AVELINO, J. R. L.; ENDRES, L. Morpho-physiological adaptation of *Jatropha curcas* L. to salinity stress. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 4, p. 563-571, 2018.

CAMPOS, M. L. D. O.; HSIE, B. S. D.; GRANJA, J. A. D. A.; CORREIA, R. M.; CORTEZ, J. S. A.; POMPELLI, M. F. Photosynthesis and antioxidant activity in *Jatropha curcas* L. under salt stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 55-67, 2012.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of botany**, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.

COSCOLIN, R. B. S.; BROETTO, F.; MARCHESE, J. A.; CAMPOHERMOSO, M. C.; PALADINI, M. V. Effects of hydric deficiency on gas exchange parameters and metabolism of *Eucalyptus grandis* clones. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 4, p. 255-262, 2011.

GOLDEMBERG, J. Biomassa e energia. **Química Nova**. V. 32, p. 582-587, 2009.

GOMATHI, R.; THANDAPANI, T. V. Salt stress in relation to nutrient accumulation and quality of sugarcane genotypes. **Sugar Tech**, v. 7, n. 1, p. 39-47, 2005.

GRASSI, G.; MAGNANI, F. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 7, p. 834-849, 2005.

HARFOUCHE, A.; MEILAN, R.; ALTMAN, A. Molecular and physiological responses to abiotic stress in forest trees and their relevance to tree improvement. **Tree physiology**, v. 34, n. 11, p. 1181-1198, 2014.

HISHIDA, M.; ASCENCIO-VALLE, F.; FUJIYAMA, H.; ORDUÑO-CRUZ, A.; ENDO, T.; LARRINAGA-MAYORAL, J. A. Antioxidant enzyme responses to salinity stress of *Jatropha curcas* and *J. cinerea* at seedling stage. **Russian journal of plant physiology**, v. 61, n. 1, p. 53-62, 2014.

**IBÁ – INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES**. 2017. Brasília. Relatório Ibá. 80p. Disponível em: <[http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA\\_RelatorioAnual2017.pdf](http://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf)>. Acesso em: 15 jan. 2018.

KALAJI, H. M.; BOSA, K.; KOSCIELNIAK, J.; ZUK-GOLASZEWSKA, K. Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation of two Syrian barley landraces. **Environmental and Experimental Botany**, v. 73, p. 64-72, 2011.

KUMAR, T.; KHAN, M. R.; JAN, S. A.; AHMAD, N.; ALI, N. N.; ZIA, M. A.; ROOMI, S.; IQBAL, A.; ALI, G. M. Efficient regeneration and genetic transformation of sugarcane with AVP1 gene. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 14, p. 165-171, 2014.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350–382, 1987.

LOPES, J. L. W.; GUERRINI, I. A.; SILVA, M. R. D.; SAAD, J. C. C.; LOPES, C. F. Estresse hídrico em plantio de *Eucalyptus grandis* vs. *Eucalyptus urophylla*, em função do solo, substrato e manejo hídrico de viveiro. **Revista Árvore**, v. 35, p. 31-39, 2011.

LOPES, V. A.; SOUZA, B. R.; MOURA, D. R.; SILVA, D. Z.; SILVEIRA, P. S.; MATOS, F. S. Initial growth of *Eucalyptus* plants treated with gibberellin. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 11, p. 1251-1255, 2015.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. **Journal of experimental botany**, v. 51, n. 345, p. 659-668, 2000.

MEDEIROS, D. B.; SILVA, E. C.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; TEIXEIRA, M. M.; BUCKERIDGE, M. S. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 25, n. 3, p. 213-222, 2013.

MULLER, C., HODECKER, B. E. R., MERCHANT, A., BARROS, N. F. D. Nutritional Efficiency of *Eucalyptus* Clones Under Water Stress. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 41, 2017.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: bringing them together. **New phytologist**, v. 167, n. 3, p. 645-663, 2005.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanism of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? **New phytologist**, v. 208, n. 3, p. 668-673, 2015.

PINHEIRO, H. A.; SILVA, J. V.; ENDRES, L.; FERREIRA, V. M.; CÂMARA, C. A.; CABRAL, F. F.; OLIVEIRA, J. F.; CARVALHO, L. W. T.; SANTOS, J. M.; SANTOS FILHO, B. G. Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in castor bean (*Ricinus communis* L) seedlings subjected to salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, v. 27, n. 3, p. 385-392, 2008.

PLAZEK, A.; TATRZAŃSKA, M.; MACIEJEWSKI, M.; KOSCIELNIAK, J.; GONDEK, K.; BOJARCZUK, J.; DUBERT, F. Investigation of the salt tolerance of

new Polish bread and durum wheat cultivars. **Acta physiologiae plantarum**, v. 35, n. 8, p. 2513-2523, 2013.

PRISCO, J. T.; GOMES FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Fortaleza, **INCTSal**, p. 143-159. 2010.

RICHARDS, L. A. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Agriculture Handbook. **US Department of Agriculture, Washington**, v. 60, 160p. 1954.

SANTOS, C. M.; SILVA, M. A. Physiological and biochemical responses of sugarcane to oxidative stress induced by water deficit and paraquat. **Acta physiologiae plantarum**, v. 37, n. 8, p. 172, 2015.

SANTOS, C. M.; ENDRES, L.; FERREIRA, V. M.; SILVA, J. V.; ROLIM, E. V.; WANDERLEY FILHO, H. C. Photosynthetic capacity and water use efficiency in *Ricinus communis* (L.) under drought stress in semi-humid and semi-arid areas. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 3015-3029, 2017.

SENGAR, K.; SENGAR, R. S.; SINGH, A. Biotechnological and genomic analysis for salinity tolerance in sugarcane. **International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research**, v. 4, p. 407-414, 2013.

SILVA, A. L. L.; OLIVEIRA, Y.; DIBAX, R.; COSTA, J. L.; SCHEIDT, G. N.; MACHADO, M. P.; GUERRA, E. P.; BRONDANI, G. E.; ALVES, S. A. O.. Hydroponics growth of *Eucalyptus saligna* Sm. on salt-stress mediated by sodium chloride. **Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 213-218, 2012.

SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 173-181, 2014.

SIXTO, H.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, B. D.; MOLINA-RUEDA, J. J.; GARRIDO-ARANDA, A.; SANCHEZ, M. M.; LÓPEZ, G.; GALLARDO, F.; CANELLAS, I.; MOUNET, F.; PETTENATI, J. G.; CANTÓN, F. *Eucalyptus* spp. and *Populus* spp. coping with salinity stress: an approach on growth, physiological and molecular features in the context of short rotation coppice (SRC). **Trees**, v. 30, n. 5, p. 1873-1891, 2016.

VELLINI, A. L. T. T.; PAULA, N. F.; ALVES, P. L. C. A.; PAVANI, L. C.; BONINE, C. A. V.; SCARPINATI, E. A.; PAULA, R. C. Respostas fisiológicas de diferentes

clones de eucalipto sob diferentes regimes de irrigação. **Revista Árvore**, v. 32, p. 651-663, 2008.

VIEIRA, G. E. G.; NUNES, A. P.; TEIXEIRA, L. F.; COLEN, A. G. N. Biomassa: uma visão dos processos de pirólise. **Revista Liberato**, v. 15, n. 24, p. 105-212, 2014a.

VIEIRA, G. H. S.; MANTOVANI, E. C.; SEDIYAMA, G. C.; DELAZARI, F. T. Indicadores morfo-fisiológicos do estresse hídrico para a cultura da cana-de-açúcar em função de lâminas de irrigação. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 65-75 n. 3, 2014b.

## CAPÍTULO III

### ACÚMULO DE ÍONS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ÍNDICES DE CRESCIMENTO E TOLERÂNCIA EM CLONES DE EUCALIPTO SOB ESTRESSE SALINO

#### RESUMO

O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o acúmulo de íons, a atividade do sistema antioxidante e a concentração de prolina em clones de eucalipto como indicativos da tolerância às condições de salinidade do solo. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial  $3 \times 4$ , sendo três clones de *Eucalyptus*: VC865, I224 e I144, e quatro concentrações de NaCl (0, 1, 2 e 3 g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$  de solo), com cinco repetições, totalizando 60 parcelas. Os clones de eucalipto responderam de forma diferenciada à salinidade do solo: O I144 apresentou menores reduções no  $\Psi_w$ , concentração de  $\text{K}^+$ , MSF e MSC. Além disso, teve menor  $\Psi_s$  associado ao aumento de  $\text{Na}^+$  e prolina e baixa relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , indicando maior ajuste osmótico. Esse clone também apresentou maior atividade das enzimas antioxidantes (SOD, APX e CAT) e menores conteúdos de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e MDA, sendo considerado o mais tolerante à salinidade do solo. Por outro lado, os clones VC865 e I224 foram classificados como moderadamente tolerante e sensível à salinidade do solo, respectivamente. Os incrementos relativos da altura de planta, diâmetro do caule e número de folhas foram mais afetados negativamente pelo sal no clone I224. O aumento da salinidade do solo prejudicou a área foliar e os índices de tolerância de todas as partes da planta nos três clones, sendo o I224 o mais afetado. Os índices de incremento relativo e de tolerância são eficientes na seleção de clones de eucalipto tolerantes à salinidade do solo. As variáveis estudadas nos possibilitaram classificar os clones na seguinte ordem de tolerância: I144 > VC865 > I224.

Palavras-chave: *Eucalyptus*, crescimento, atividade antioxidante, salinidade do solo.

#### 1. INTRODUÇÃO

A área usada com espécies florestais para fins comerciais vem aumentando em todo o mundo, e essas florestas são estabelecidas principalmente com espécies de eucalipto, que apresentam alta produtividade e boa adaptação a diferentes condições ambientais (SILVA et al., 2014). Contudo, essas áreas muitas vezes apresentam condições desfavoráveis para as plantas, como a salinidade do solo, sendo este um fator preponderante nas regiões áridas e semiáridas do mundo, afetando negativamente a produtividade vegetal (JAMES et al., 2012; JISHA et al., 2013; GHOLAMI et al., 2015).

A presença de sais em grande quantidade no solo reduz o potencial osmótico do mesmo, e conseqüentemente o potencial hídrico, inibindo o crescimento e desenvolvimento das plantas, além de causar toxicidade iônica e desequilíbrios nutricionais em função do acúmulo de íons no citosol (MUNNS; TESTER, 2008; SÁ et al., 2015). Com isso aumenta a concentração de  $\text{Na}^+$  na planta e como consequência há a redução de  $\text{K}^+$ , tanto nas folhas quanto nas raízes (MAGGIO et al., 2007, PATTERSON et al., 2009), em função do  $\text{Na}^+$  competir pelos mesmos sítios de absorção do  $\text{K}^+$  na membrana plasmática (DEINLEIN et al., 2014). Como um dos mecanismos de adaptação à salinidade, a planta pode excluir o  $\text{Na}^+$  dos seus tecidos fotossintéticos, a fim de manter um equilíbrio entre as concentrações de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (MUNNS, 2002; GANDONOU et al., 2011), uma vez que o  $\text{K}^+$  é um dos principais componentes celulares que estão envolvidos com o equilíbrio osmótico na célula (SHABALA; POTTOSIN, 2014). Um outro mecanismo é a compartimentalização do  $\text{Na}^+$  no vacúolo das células (PATTERSON et al., 2009, SILVEIRA et al., 2010).

O acúmulo de sais no solo também provoca estresse oxidativo, em função do acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células vegetais, como o radical superóxido ( $\text{O}^{\cdot-}$ ), o radical hidroxila ( $\text{OH}^{\cdot}$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) (STANISAVLJEVIC et al. 2011; GUPTA; HUANG 2014; KUMAR et al 2018), causando danos no metabolismo das plantas, como oxidação de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (ROSSATTO et al., 2017). Contudo, as plantas possuem um complexo sistema antioxidante cuja função é proteger as células dos danos causados pelas EROs (ROSSATTO et al., 2017), através da atividade de enzimas como a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) (SILVEIRA et al.. 2010; AHMAD, 2014), reduzindo a concentração de peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica (SILVEIRA et al., 2010; CHEN et al., 2016). Portanto, a capacidade de uma planta suportar a salinidade do solo pode está relacionada com o equilíbrio entre a produção de EROs e a ativação do sistema de defesa antioxidante (TURKAN; DEMIRAL, 2009), promovendo a adaptação ou tolerância a esse estresse.

Na condição de salinidade as plantas também podem se ajustar osmoticamente na tentativa de sofrer menos danos devido ao estresse, como através do acúmulo de prolina. Há evidências de que esse osmólito ajuda no ajuste osmótico e na proteção de algumas estruturas celulares quando a planta é exposta a condições salinas (AHMED et

al., 2012, IQBAL et al., 2014), sendo seu aumento relacionado com a tolerância das plantas ao estresse (WANI et al., 2013).

Diversos pesquisadores avaliaram genótipos diferentes de uma mesma espécie quanto a sua tolerância a estresses abióticos, entre os quais, tanto o incremento relativo quanto o índice de tolerância foram eficientes na seleção dos materiais. Em híbridos de eucalipto, os índices de incremento relativo de crescimento auxiliaram na distinção entre tolerantes e sensíveis ao estresse hídrico (SILVA et al., 2014), enquanto índices de tolerância foram capazes de discriminar materiais tolerantes ao estresse salino em genótipos de sorgo (AQUINO et al., 2007) e mamoneira (SÁ et al., 2016).

Sendo assim, estudos envolvendo índices de crescimento e tolerância em clones de eucalipto sob condições de salinidade podem fornecer informações básicas sobre o potencial de cada um, de modo que seja possível inferir qual material genético melhor se adapta às condições adversas da região. Além disso, a compreensão da interação entre esses índices e condições ambientais permite definir estratégias de manejo para minimizar condições de estresse em espécies florestais, bem como selecionar materiais tolerantes à salinidade em programas de melhoramento.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o acúmulo de íons, a atividade do sistema antioxidante e os índices de crescimento e tolerância em clones de eucalipto, visando identificar sua tolerância às condições de salinidade do solo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no setor de Fisiologia Vegetal da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, localizada no município de Rio Largo-AL (09° 28' S, 35° 49' W e 127 m de altitude). Utilizaram-se três clones de Eucalipto, VC865, I224 e I144, selecionados com base na área de plantio no estado de Alagoas e resultantes do processo de hibridação entre *E. grandis* com *E. urophylla*.

Foram utilizados vasos com capacidade de 20 L, preenchidos com solo Latossolo Arenoso-argiloso (tabela 1), o qual foi salinizado adicionando-se NaCl com base na massa seca, em quatro concentrações distintas: 0, 1, 2 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo. O material permaneceu incubado e mantido na capacidade de campo durante quatro meses, elevando-se a condutividade elétrica (CE) do solo de 2 (0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo-

Controle) para 6, 10 e 12 dS m<sup>-1</sup> nas concentrações de 1, 2 e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo, respectivamente. A CE do solo foi estimada conforme Richards (1954).

**Tabela 1.** Propriedades químicas e físicas do solo utilizado no experimento.

Características químicas															
pH	MO	P <sub>resina</sub>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	K	Ca	Mg	CTC	Na	V	B	Cu	Fe	Mn	Zn
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	Mg dm <sup>-3</sup>	-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----							%		-----cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----			
4,6	27,5	26,5	---	4,0	0,85	1,65	1,05	7,55	0,35	47	0,27	0,25	100	1,3	0,5
Características físicas															
Areia total					Argila					Silte		Classificação textural			
-----g Kg <sup>-1</sup> -----															
599					368					33		Areno argiloso			

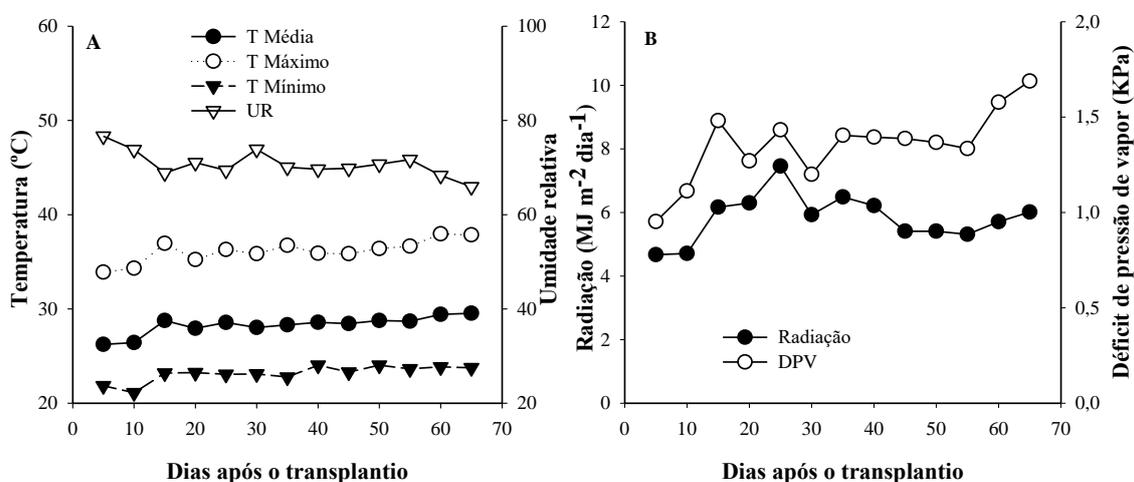
pH: potencial hidrogeniônico; MO: matéria orgânica; P: fósforo; Al<sup>3+</sup>: alumínio trocável; H: hidrogênio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; CTC: capacidade de troca catiônica; Na: sódio; V: saturação por bases; B: boro; Cu: cobre; Fe: ferro; Mn: manganês; Zn: zinco.

As mudas de Eucalipto foram adquiridas em viveiro comercial, localizado no município de Chã do Pilar – AL, e contavam com idade de 120 dias e tamanhos homogêneos, as quais foram transplantadas para sacos plásticos com capacidade para 750 g de solo, permanecendo nos mesmos durante 30 dias, quando então foram transplantadas para os vasos com solo salinizado. As plantas foram irrigadas com água destilada, a fim de manter a umidade do solo sempre em capacidade de campo. Durante esse período, a água drenada foi coletada, e reposta aos vasos para manutenção da condutividade elétrica do solo.

O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados, em esquema fatorial 3x4, constituído por três clones e quatro concentrações salinas no solo, com 5 repetições, totalizando 60 parcelas, compostas por um vaso contendo uma planta por vaso.

Durante o período experimental as condições ambientais no interior da casa-de-vegetação foram registradas por uma estação meteorológica automática (DELTA-T Devices, Cambridge-England) (Figura 1).

**Figura 1.** Temperaturas máxima, média e mínima do ar, Umidade relativa média do ar (A), Radiação média incidente e Déficit de pressão de vapor do ar (B) durante o período de estresse salino.



Aos 60 dias após o transplântio (DAT), foram realizadas as avaliações dos potenciais hídrico ao amanhecer ( $\Psi_w$  4:30 h) e ao meio-dia ( $\Psi_w$  12:00 h), e osmótico ( $\Psi_s$ ) somente ao meio-dia, dos teores foliares de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  e as análises de Superóxido dismutase (SOD), Ascorbato peroxidase (APX), Catalase (CAT), peroxidação de lipídeos (MDA), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e prolina. Para realização das análises foram utilizadas folhas completamente expandidas do terço médio das plantas, coletadas ao meio-dia.

O  $\Psi_w$  foi avaliado usando-se uma câmara de pressão (modelo 3005, Santa Barbara, EUA). As medições foram realizadas às 4:30 h (pre-dawn) e às 12 horas (meio-dia).

As leituras de  $\Psi_s$  foram realizadas com um osmômetro de pressão de vapor (VAPRO 5520 WESCOR). O extrato (suco celular) para as leituras foi obtido através do envolvimento em papel alumínio das folhas frescas, seguida de prensagem destas amostras, coletando-se o suco celular em microtubos de 1,5 mL, conservados em ultrafreezer  $-70^\circ\text{C}$ , até as leituras.

As análises dos teores foliares de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  foram realizadas conforme metodologia do laboratório de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciência do solo, da Escola Superior de Agronomia Luís de Queiroz – ESALQ/USP, ambos determinados por fotometria de chama, segundo Bloise e Moreira (1976).

Para as análises bioquímicas, as folhas selecionadas foram rapidamente congeladas em  $\text{N}_2$  líquido e armazenadas em freezer a  $-70^\circ\text{C}$ , até o momento das análises. Os extratos para quantificação da atividade das enzimas APX e CAT, foram

obtidos através da maceração a frio com auxílio de almofariz, pistilo e N<sub>2</sub>. Cerca de 0,3 g de tecido foliar foi submetido a extração em solução contendo 300 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,5), 2 mM de EDTA e 20 mM de ácido ascórbico com adição de 0,3 g de PVPP, perfazendo um volume final de 2000 µL. O extrato foi centrifugado a 15000 g, por 10 minutos, a 4°C. A extração para quantificação da SOD foi obtido a partir de 0,1 g de tecido vegetal congelado, macerado em 2000 µL do meio de extração contendo Tampão Fosfato de Potássio 300 mM (pH = 7,8).

A atividade da APX foi obtida seguindo a metodologia de Nakano; Asada (1981). Para a medida de atividade, foi utilizado 20 µL de extrato adicionado a 334 µL de tampão fosfato de potássio 300 mM (pH 7,5), 20 µL de ascorbato de sódio 50 mM, 20 µL de peróxido de hidrogênio 10 mM e 1606 µL de água deionizada. A atividade da enzima foi determinada pelo acompanhamento da oxidação do ascorbato, a cada 10 segundos, durante um minuto. A reação oxidativa foi monitorada em espectrofotômetro (Gênese UK10) a 290 nm, em triplicata. Uma unidade da atividade da APX foi definida como a conversão de 1 µM de ácido ascórbico em monodehidroascorbato durante um minuto. O coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ) utilizado nos cálculos para esta enzima foi 2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, e expressa em unidade mg<sup>-1</sup> de proteína. Onde a quantificação de proteínas foi realizada conforme o protocolo de Bradford (1976), utilizando-se albumina de soro bovino como padrão.

A atividade da CAT foi quantificada segundo Havir; Mchale (1987), com modificações. Alíquotas de 20 µL do extrato enzimático foram adicionados a 334 µL de fosfato de potássio 300 mM (pH 7,5), 250 µL de peróxido de hidrogênio 12,5 mM e 1396 µL de água destilada incubadas a 30°C. A atividade da enzima foi determinada em espectrofotômetro Gênese UK10, pela redução da absorbância a 240 nm, por um minuto, monitorado pelo consumo de peróxido de hidrogênio, em triplicata. Uma unidade da atividade da CAT foi definida como a degradação de 1 µM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante um minuto. O coeficiente de extinção molar ( $\epsilon$ ) utilizado nos cálculos para esta enzima foi 36 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, e expressa como unidade mg<sup>-1</sup> de proteína.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT), conforme proposto por Giannopolitis; Ries (1977), com modificações. Foram adicionados 100 µL do extrato enzimático a 2900 µL do meio de reação composto por: tampão de fosfato de potássio 300 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 100 mM, NBT 75 µM, e riboflavina 2 µM. A amostra de referência foi utilizada apenas o meio de reação sem adição de extrato vegetal. A

amostra mais o meio de reação foram iluminados com lâmpada fluorescente de 15 W por 4 minutos, e posteriormente, realizada a absorvância a 560 nm em espectrofotômetro Gênesis UK10, em triplicata. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotoredução do NBT nas condições do ensaio, e expressas em unidade  $\text{mg}^{-1}$  de proteína.

O conteúdo de peróxido de hidrogênio foi determinado de acordo com Velikova et al. (2000). Foi macerado cerca de 0,1 g de material fresco congelado, em solução ácida composta por 2000  $\mu\text{L}$  de TCA (ácido tricloroacético) a 0,1% (m/v) e centrifugados a 10000 g por 10 minutos, a 4°C. Em tubos de ensaio contendo 800  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de potássio 10 mM (pH 7,0) e 1000  $\mu\text{L}$  de iodeto de potássio 1 M, foi adicionado 200  $\mu\text{L}$  do sobrenadante e a mistura incubada por 10 min a 30°C. Posteriormente, a absorvância foi realizada a 390 nm, em triplicata, e o conteúdo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi calculado por meio de uma curva padrão de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) estabelecida previamente, expresso em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  MF.

A peroxidação lipídica foi determinada pela quantificação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), como descrito por Cakmak; Horst (1991) com pequenas modificações. Foi macerado cerca de 0,3 g com 2000  $\mu\text{L}$  de TCA 0,1%. O homogeneizado foi então centrifugado a 10000 g por 10 minutos a 4°C. Alíquotas de 200  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram adicionadas a 1800  $\mu\text{L}$  do meio de reação composto por ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (m/v) e TCA 10% (m/v), e incubados a 90 °C por 60 minutos com interrupção da reação pelo rápido resfriamento em banho de gelo. Os extratos foram novamente centrifugados sob mesma rotação e tempo anteriores, para clareamento e ausência de interferentes. A absorvância da amostra foi determinada a 532 nm, em triplicata, e para se obter os valores de absorvância líquida, o valor foi descontado da absorvância inespecífica a 600 nm. A peroxidação de lipídeos através da quantificação de MDA foi expressa em  $\text{nmol g}^{-1}$  MF.

A prolina foi analisada com base no método de Bates et al. (1973). Para tanto, 0,25 g do material vegetal foi liofilizado, macerado e homogeneizado em ácido sulfosalicílico aquoso a 3% e o homogeneizado foi centrifugado a 4000 g por 10 minutos. Posteriormente, foi coletado 1 mL de sobrenadante em tubo de ensaio e adicionados 2 mL de ninhidrina ácida e 2 mL de ácido acético glacial, e arrefecidos a 100 °C durante 1 h, paralisando-se a reação em banho de gelo. Após o término da reação, foram adicionados 2 mL de tolueno e agitados vigorosamente em vórtex. A leitura de absorvância foi realizada a 520 nm em espectrofotômetro tendo o tolueno

como branco. O teor de prolina foi calculado utilizando L-prolina PA (Sigma-Aldrich) como padrão e expresso em  $\mu\text{mol prolina g MS}^{-1}$ .

Já aos 30 e 60 dias após o transplântio (DAT), foram realizadas as avaliações biométricas da altura de plantas (AP) com auxílio de fita métrica, diâmetro do caule (DC) utilizando-se paquímetro digital, e número de folhas (NF) pela contagem de todas as folhas verdes de cada planta. A partir dessas medidas para eliminar os efeitos das diferenças no desenvolvimento das plantas no estabelecimento dos clones, foram calculados os índices de incremento relativo da AP, DC e NF usando a seguinte fórmula:  $IR = [(Af - Ai) / Ai] * 100$ , onde Af é o valor da característica A (altura, diâmetro e número de folha) no final do experimento e Ai é o valor da característica A (altura, diâmetro e número de folha) no início do experimento, conforme metodologia adotada por Silva et al. (2014).

A área foliar foi avaliada apenas aos 60 DAT com a coleta das plantas, utilizando um medidor de área LI-3100 Licor.

Na ocasião da coleta das plantas, essas foram separadas em folhas, caule e raiz e colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 70 °C até atingirem peso constante, obtendo-se a massa seca de folhas (MSF), caule (MSC) e raiz (MSR). A partir das medidas de massa seca foram calculados os índices de tolerância à salinidade de cada parte da planta, comparando-se os dados dos tratamentos salinos com os do controle (0 g NaCl  $\text{kg}^{-1}$  solo), de acordo com a seguinte fórmula:  $IT = [(produção\ de\ massa\ seca\ no\ tratamento\ salino / produção\ de\ massa\ seca\ no\ tratamento\ controle) * 100]$ , conforme metodologia adotada por Aquino et al. (2007).

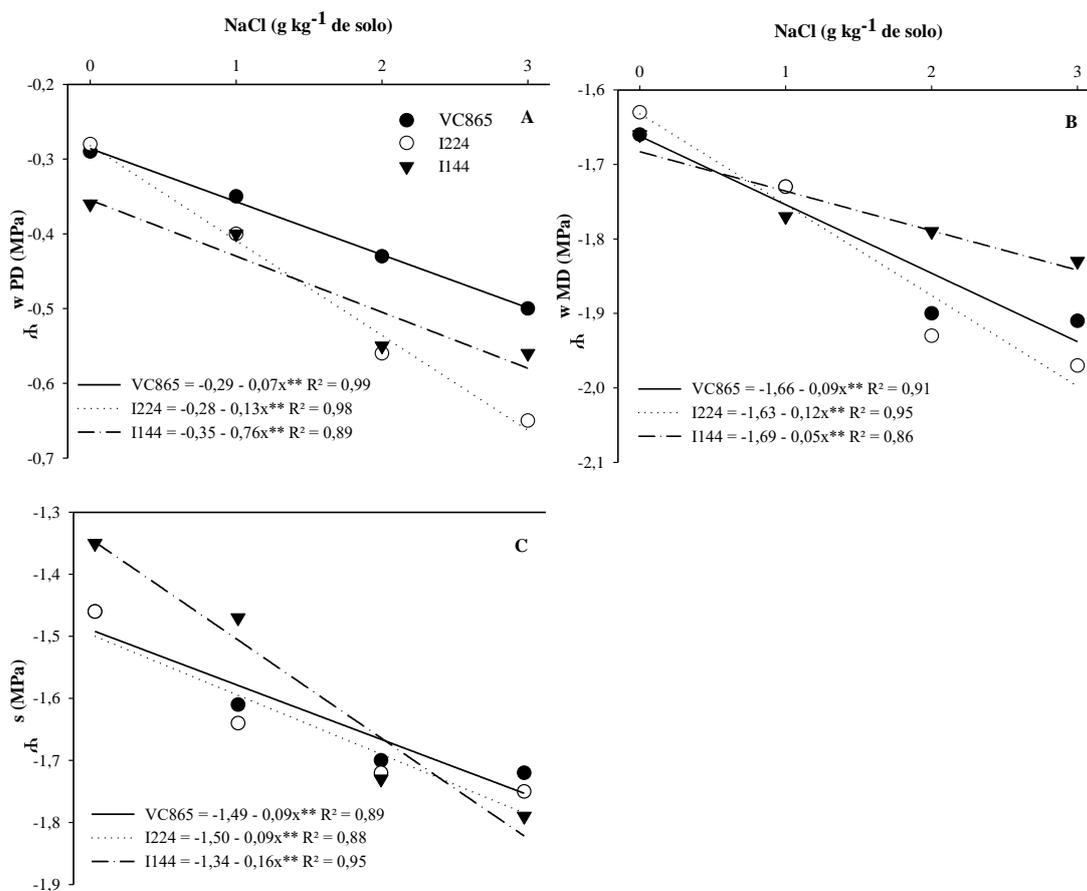
Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo o fator salinidade do solo analisado por meio de regressão polinomial e o fator clone analisado pelo teste Tukey, com  $P < 0,05$ . A correlação de Pearson (r) foi utilizada para verificar a relação entre as variáveis fisiológicas analisadas dentro de cada condição salina.

### **3. RESULTADOS**

Os potenciais hídricos ao amanhecer e ao meio-dia e o potencial osmótico reduziram com o aumento da salinidade do solo nos clones de eucaliptos estudados (Figura 2). Os clones VC865, I224 e I144 reduziram o  $\Psi_w$  ao amanhecer em 72,41; 135,71 e 65,71%, respectivamente, na concentração salina de 3 g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$  de solo, quando comparado a salinidade de 0 g de NaCl  $\text{kg}^{-1}$  (Figura 2A). Já ao meio-dia essas

reduções foram de 16,87; 22,70 e 8,87% para os clones VC865, I224 e I144, respectivamente, quando se aumentou a salinidade do solo para 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> (Figura 2B). Semelhante, o  $\Psi_s$  reduziu com o aumento da salinidade em todos os clones, sendo essas reduções de 18,12; 18,66 e 36,56% em VC865, I224 e I144, respectivamente (Figura 2C).

**Figura 2.** Potenciais hídricos ao amanhecer –  $\Psi_w$  PD (A) e meio-dia –  $\Psi_w$  MD (B) e potencial osmótico –  $\Psi_s$  ao meio dia (C) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



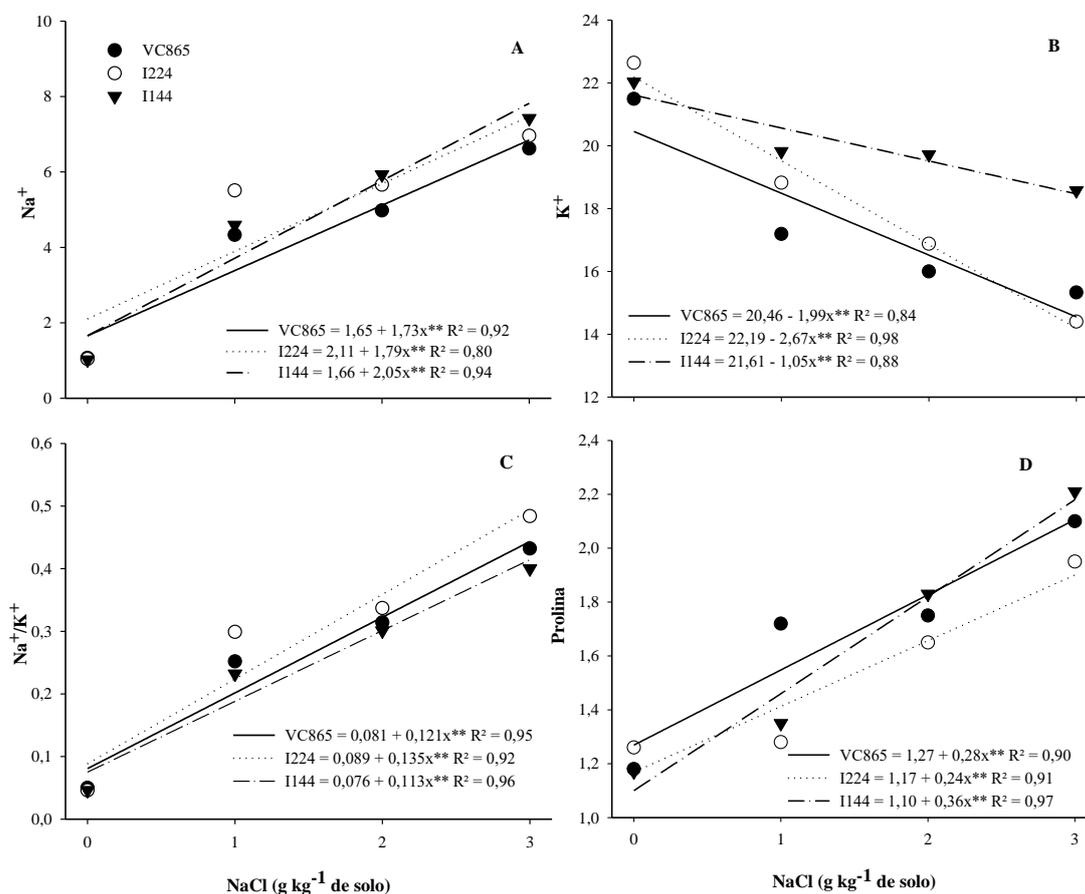
\*\* : significativo p<0,01.

Os teores de Na<sup>+</sup> aumentaram e os de K<sup>+</sup> diminuíram, com conseqüente aumento da relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> em função do incremento da salinidade do solo (Figura 3). A concentração de Na<sup>+</sup> aumentou 315,15; 254,50 e 371,08% nos clones VC865, I224 e I144, respectivamente, na maior salinidade quando comparada ao controle (Figura 3A). Por outro lado, os clones VC865, I224 e I144 apresentaram reduções na concentração de K<sup>+</sup> em 28,88; 56,48 e 14,58%, respectivamente, na comparação entre a salinidade de

3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> e 0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> (Figura 3B). Já a relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> aumentou com o incremento da salinidade até a maior concentração em todos os clones, na ordem de 450; 512 e 412,50% em VC865, I224 e I144, respectivamente (Figura 3C).

A salinidade do solo também provocou o aumento de prolina em todos os clones, sendo esse aumento de 66,14; 62,39; 98,18% em VC865, I224 e I144, respectivamente, quando se comparou a concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> com 0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> (Figura 3D). A prolina se correlacionou positivamente com o Ψ<sub>w</sub> ao meio-dia, K<sup>+</sup>, APX, SOD, IR-AP, AF, todos os índices de tolerância e MSF e MSC, e negativamente com MDA e relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> na maior concentração de sal no solo (Tabela 2).

**Figura 3.** Teores de Na<sup>+</sup> (A) e K<sup>+</sup> (B), relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> (C) e Prolina (D) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



\*\* : significativo p < 0,01.

**Tabela 2.** Correlação de Pearson entre o potencial hídrico ao meio dia ( $\Psi_w$  MD), potencial osmótico ( $\Psi_s$ ), teores de  $K^+$  e  $Na^+$ , relação  $Na^+/K^+$ , ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), teor de malondialdeído (MDA), teor de prolina, Incrementos relativos de altura de planta (IR-AP), diâmetro do caule (IR-DC) e número de folhas (IR-NF), área foliar (AF), índices de tolerância de folhas (ITF), caule (ITC), raiz (ITR) e total (ITT) e massas secas de folha (MSF), caule (MSC) e raiz (MSR) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.

S	Var.	$\Psi_s$	K	Na	Na/K	APX	CAT	SOD	$H_2O_2$	MDA	Prol	IR-AP	IR-DC	IR-NF	AF	ITF	ITC	ITR	ITT	MSF	MSC	MSR
0	$\Psi_w$ MD	-0,11	0,02	0,14	0,12	0,04	-0,17	0,17	-0,05	0,47	0,13	-0,38	-0,40	-0,25	-0,48	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,60	-0,00	0,51
	$\Psi_s$		0,21	-0,27	-0,38	-0,73	-0,30	0,08	-0,13	-0,70	-0,07	0,78	0,16	-0,14	0,28	1,00	1,00	1,00	1,00	0,29	0,81	-0,04
	K			0,17	-0,45	0,05	0,40	0,38	-0,07	0,20	0,25	0,16	-0,15	0,00	0,29	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,26	0,07	0,23
	Na				0,79	0,29	0,01	0,48	0,49	-0,00	0,31	-0,19	-0,40	0,30	-0,42	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,03	0,02	-0,18
	Na/K					0,25	-0,23	0,22	0,50	-0,12	0,14	-0,29	-0,27	0,27	-0,57	1,00	1,00	1,00	1,00	0,11	-0,03	-0,30
	APX						0,30	0,08	0,33	0,59	0,28	-0,79	-0,03	0,13	-0,27	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,31	-0,70	0,00
	CAT							-0,07	-0,12	0,33	0,08	-0,11	-0,15	-0,04	0,00	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,49	-0,12	0,07
	SOD								-0,22	-0,03	0,08	0,21	-0,19	0,18	-0,05	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,13	0,22	0,33
	$H_2O_2$									-0,19	0,32	-0,46	-0,25	-0,03	-0,26	1,00	1,00	1,00	1,00	0,11	-0,19	-0,64
	MDA										0,11	-0,66	-0,23	0,06	-0,20	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,62	-0,66	0,51
	Prol											-0,17	-0,25	0,02	-0,31	1,00	1,00	1,00	1,00	-0,36	0,02	-0,01
	IR-AP												0,25	0,09	0,33	1,00	1,00	1,00	1,00	0,36	0,78	0,01
	IR-DC													0,25	0,13	1,00	1,00	1,00	1,00	0,45	0,05	0,00
	IR-NF														-0,24	1,00	1,00	1,00	1,00	0,19	0,08	0,22
	AF															1,00	1,00	1,00	1,00	0,31	-0,06	-0,13
	ITF																1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	ITC																	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
	ITR																		1,00	1,00	1,00	1,00
	ITT																			1,00	1,00	1,00
	MSF																				0,11	-0,45
	MSC																					0,13
1	$\Psi_w$ MD	-0,29	-0,41	0,32	0,52	-0,12	0,16	0,05	0,19	0,12	-0,06	-0,29	-0,24	-0,14	-0,18	-0,06	-0,08	-0,43	-0,61	-0,23	-0,14	-0,00
	$\Psi_s$		0,26	-0,30	-0,38	-0,21	-0,54	0,38	0,19	-0,67	-0,27	0,64	0,00	0,42	0,56	-0,05	-0,17	0,48	0,25	0,49	0,33	0,00
	K			-0,04	-0,53	-0,09	-0,22	0,34	-0,39	-0,22	-0,08	0,62	0,39	-0,04	0,00	0,46	0,37	0,19	0,83	0,61	0,53	0,29
	Na				0,86	0,09	0,13	-0,13	-0,15	0,44	-0,37	-0,28	-0,37	-0,60	-0,40	0,54	0,39	-0,66	0,01	0,10	0,36	0,48
	Na/K					0,08	0,22	-0,26	0,04	0,49	-0,28	-0,55	-0,56	-0,48	-0,34	0,25	0,18	-0,69	-0,41	-0,17	0,06	0,27
	APX						-0,06	0,00	-0,04	-0,12	0,06	-0,37	0,21	-0,37	0,07	-0,18	-0,31	0,33	0,04	-0,14	-0,22	-0,23
	CAT							-0,62	0,35	0,46	0,00	-0,43	0,12	0,02	-0,52	0,06	0,03	-0,34	-0,23	-0,39	-0,25	0,10
	SOD								-0,35	-0,49	0,17	0,56	-0,05	-0,12	0,12	0,29	0,23	0,06	0,37	0,66	0,55	0,19
	$H_2O_2$									-0,09	-0,34	-0,05	-0,14	0,48	0,04	-0,46	-0,33	0,13	-0,44	-0,38	-0,31	-0,33
	MDA										0,03	-0,57	-0,37	-0,53	-0,65	0,34	0,49	-0,67	-0,06	-0,25	-0,02	0,40
	Prol											-0,09	0,19	-0,05	0,11	-0,27	-0,29	0,26	-0,11	-0,24	-0,39	-0,23
	IR-AP												0,27	0,46	0,16	0,21	0,09	0,34	0,58	0,58	0,45	0,12
	IR-DC													0,19	0,05	-0,18	-0,37	0,57	0,28	-0,15	-0,21	-0,13
	IR-NF														0,45	-0,49	-0,44	0,47	-0,17	-0,12	-0,32	-0,54
	AF															-0,55	-0,53	0,60	-0,15	0,03	-0,21	-0,68
	ITF																0,85	-0,62	0,66	0,72	0,85	0,86
	ITC																	-0,74	0,54	0,56	0,79	0,69
	ITR																		0,08	-0,13	-0,43	-0,54
	ITT																			0,73	0,69	0,49
	MSF																				0,87	0,50
	MSC																					0,70

**Continuação da tabela 2.**

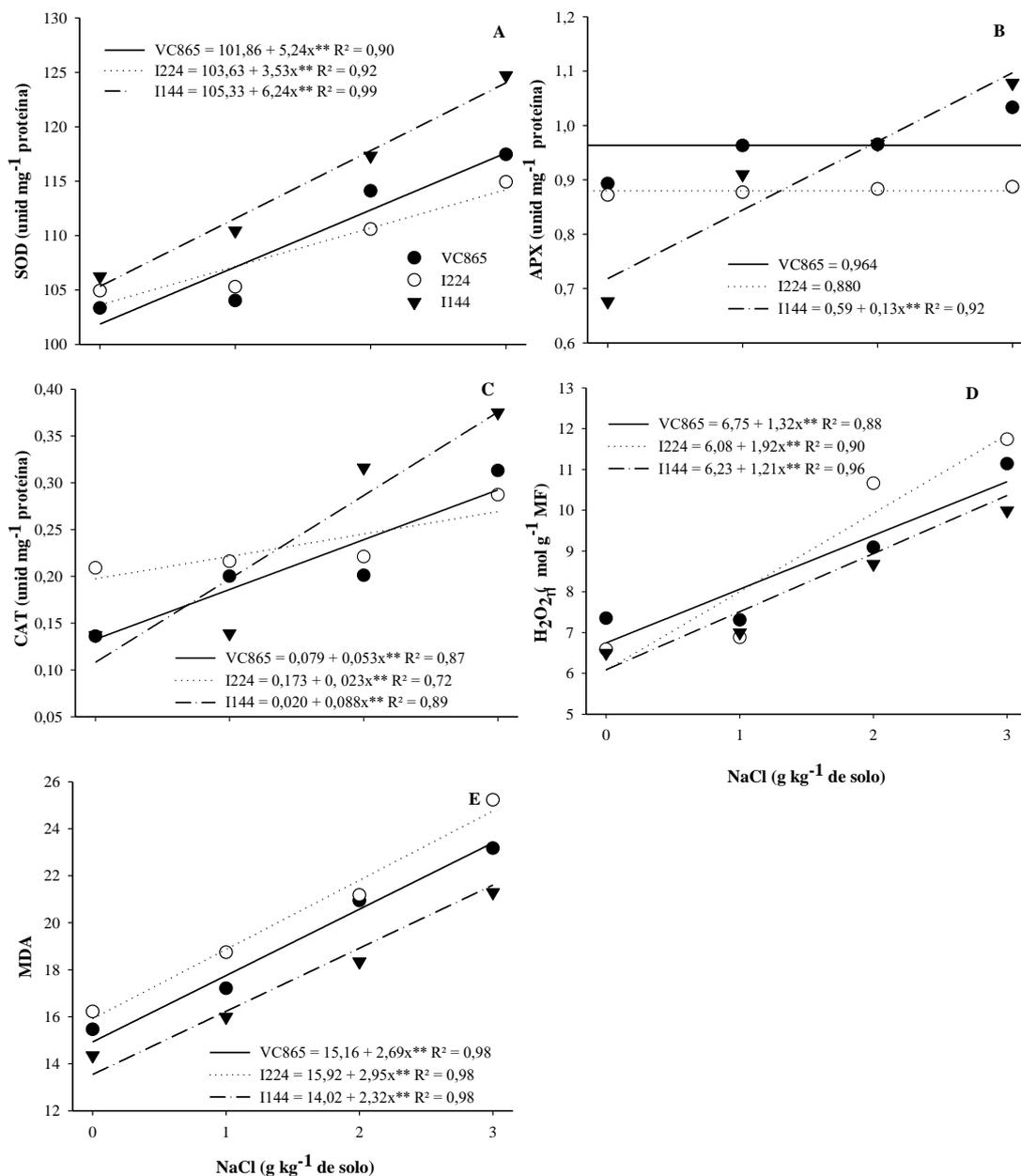
S	Var.	Ψs	K	Na	Na/K	APX	CAT	SOD	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MDA	Prol	IR-AP	IR-DC	IR-NF	AF	ITF	ITC	ITR	ITT	MSF	MSC	MSR	
2	ΨwMD	0,00	0,41	0,23	-0,20	0,28	0,56	0,74	-0,61	-0,71	0,25	0,65	0,46	0,20	0,70	-0,39	-0,41	0,28	-0,01	-0,18	0,27	0,30	
	Ψs		-0,18	0,07	0,22	0,00	-0,20	-0,11	0,03	0,26	0,06	-0,18	0,14	-0,06	-0,09	0,20	0,21	-0,33	0,02	0,12	-0,04	-0,14	
	K			0,46	-0,60	0,24	0,73	0,60	-0,32	-0,60	0,21	0,64	0,14	0,15	0,61	-0,78	-0,45	0,25	-0,36	-0,64	0,38	0,48	
	Na				0,41	0,02	0,57	0,18	-0,06	-0,57	0,41	0,46	0,03	-0,13	0,35	-0,47	-0,36	0,06	-0,36	-0,57	0,27	0,67	
	Na/K					-0,24	-0,25	-0,44	0,26	0,07	0,15	-0,25	-0,15	-0,29	-0,27	0,37	0,10	-0,17	0,04	0,11	-0,16	0,13	
	APX						0,37	0,30	-0,37	-0,32	0,49	0,01	0,40	0,02	0,16	-0,21	-0,07	0,14	0,06	0,03	-0,15	-0,18	
	CAT							0,68	-0,50	-0,76	0,47	0,78	0,42	0,32	0,71	-0,86	-0,46	0,38	-0,27	-0,61	0,61	0,45	
	SOD								-0,91	-0,76	0,43	0,80	0,39	0,44	0,74	-0,70	-0,16	0,29	-0,09	-0,13	0,62	0,01	
	H2O2									0,64	-0,58	-0,60	-0,36	-0,42	-0,57	0,49	-0,00	-0,26	-0,06	-0,14	-0,46	0,23	
	MDA										-0,60	-0,75	-0,27	-0,08	-0,77	0,75	0,55	-0,25	0,34	0,49	-0,43	-0,45	
	Prol											0,35	0,01	-0,11	0,50	-0,42	-0,17	0,15	-0,09	-0,08	0,25	0,03	
	IR-AP													0,39	0,32	0,75	-0,71	-0,42	0,35	-0,20	-0,40	0,78	0,42
	IR-DC														0,31	0,07	-0,20	-0,31	0,09	-0,04	-0,08	0,18	0,06
	IR-NF															0,21	-0,34	0,18	0,61	0,44	0,09	0,47	-0,25
	AF																-0,73	-0,49	0,39	-0,14	-0,49	0,56	0,44
	ITF																	0,42	-0,25	0,44	0,68	-0,66	-0,36
	ITC																		-0,17	0,41	0,73	0,01	-0,81
	ITR																			0,67	0,11	0,32	0,19
	ITT																				0,54	-0,05	-0,35
	MSF																					-0,29	-0,83
MSC																						0,11	
3	ΨwMD	0,11	0,71	0,32	-0,60	0,51	0,73	0,75	-0,53	-0,80	0,62	0,62	0,44	0,49	0,66	0,81	0,74	0,85	0,82	0,76	0,83	0,04	
	Ψs		-0,14	-0,00	0,15	0,07	-0,29	-0,18	0,37	0,13	-0,06	-0,03	-0,27	-0,50	-0,35	-0,17	-0,05	-0,10	-0,19	-0,07	-0,23	-0,42	
	K			0,52	-0,78	0,60	0,67	0,90	-0,78	-0,89	0,75	0,92	0,59	0,27	0,88	0,81	0,78	0,84	0,79	0,91	0,91	0,01	
	Na				0,11	0,02	0,09	0,45	-0,47	-0,34	0,30	0,53	0,40	-0,08	0,44	0,42	0,23	0,48	0,43	0,38	0,44	0,02	
	Na/K					-0,65	-0,69	-0,72	0,57	0,80	-0,68	-0,67	-0,37	-0,40	-0,71	-0,66	-0,78	-0,63	-0,62	-0,78	-0,73	-0,00	
	APX						0,59	0,53	-0,45	-0,65	0,53	0,53	0,22	0,03	0,45	0,57	0,68	0,60	0,52	0,74	0,66	-0,46	
	CAT							0,79	-0,61	-0,67	0,41	0,48	0,29	0,48	0,69	0,63	0,61	0,68	0,63	0,69	0,77	-0,07	
	SOD								-0,68	-0,84	0,65	0,83	0,43	0,36	0,90	0,84	0,77	0,85	0,85	0,90	0,89	0,00	
	H2O2									0,76	-0,50	-0,67	-0,68	-0,43	-0,61	-0,69	-0,64	-0,65	-0,70	-0,71	-0,77	0,03	
	MDA										-0,87	-0,76	-0,52	-0,52	-0,80	-0,87	-0,91	-0,86	-0,87	-0,93	-0,94	0,08	
	Prol											0,60	0,43	0,39	0,70	0,72	0,83	0,76	0,69	0,78	0,75	0,00	
	IR-AP												0,63	0,15	0,77	0,76	0,68	0,81	0,76	0,82	0,79	0,10	
	IR-DC														0,33	0,35	0,54	0,32	0,62	0,57	0,40	0,54	0,29
	IR-NF															0,41	0,42	0,43	0,48	0,49	0,30	0,49	0,37
	AF																0,80	0,77	0,81	0,78	0,85	0,85	0,23
	ITF																	0,89	0,86	0,98	0,91	0,92	0,10
	ITC																		0,80	0,86	0,93	0,87	-0,06
	ITR																			0,88	0,85	0,90	0,12
	ITT																				0,88	0,91	0,10
	MSF																					0,92	-0,11
MSC																						-0,02	

S: salinidade do solo; V.: variáveis. Número azuis (Correlação positiva) e vermelhos (correlação negativa): significativo a P<0,05.

O aumento da salinidade do solo também afetou a atividade das enzimas SOD, APX e CAT nos clones de eucalipto (Figura 4). A SOD aumentou com o incremento da salinidade em todos os clones na ordem de 15,44; 10,22 e 17,76% em VC865, I224 e I144, respectivamente, quando comparado o maior com o menor nível de salinidade do solo (Figura 4A). Já a APX aumentou em 52,77% com incremento da salinidade do solo apenas no clone I144, por outro lado manteve-se estável nos demais clones em todos os níveis salinos (Figura 4B). Semelhante a SOD, a CAT aumentou 123,08; 35,00 e 245,45% em VC865, I224 e I144, respectivamente, na salinidade de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> quando comparada a salinidade de 0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> (Figura 4C).

O conteúdo de peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica foram afetados pela salinidade do solo em todos os clones. O conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aumentou em 58,51; 95,06 e 58,26% na concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> quando comparada a concentração de 0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo nos clones VC865, I144 e I224, respectivamente (Figura 4D). Do mesmo modo, a peroxidação de lipídeos também aumentou nos clones VC865, I224 e I144 em 53,23; 55,53 e 49,57%, respectivamente, quando comparou-se a maior com a menor salinidade do solo (Figura 4E). Tendo como referência o maior nível de salinidade do solo o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresentou correlação positiva apenas com a relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> e MDA, e inversa com Ψ<sub>w</sub> meio-dia, K<sup>+</sup>, CAT, SOD IR-AP, IR\_DC, AF, todos os índices de tolerância, MSF e MSC. Já o MDA teve correlação positiva com a relação Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e negativa com Ψ<sub>w</sub> meio-dia, K<sup>+</sup>, APX, CAT, SOD, prolina, todos os incrementos relativos e índices de tolerância, MSF e MSC (Tabela 2).

**Figura 4.** Atividade das enzimas superóxido dismutase – SOD (A), ascorbato peroxidase – APX (B) e catalase – CAT (C), peróxido de hidrogênio - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (D) e conteúdo de malondialdeído – MDA (E) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.



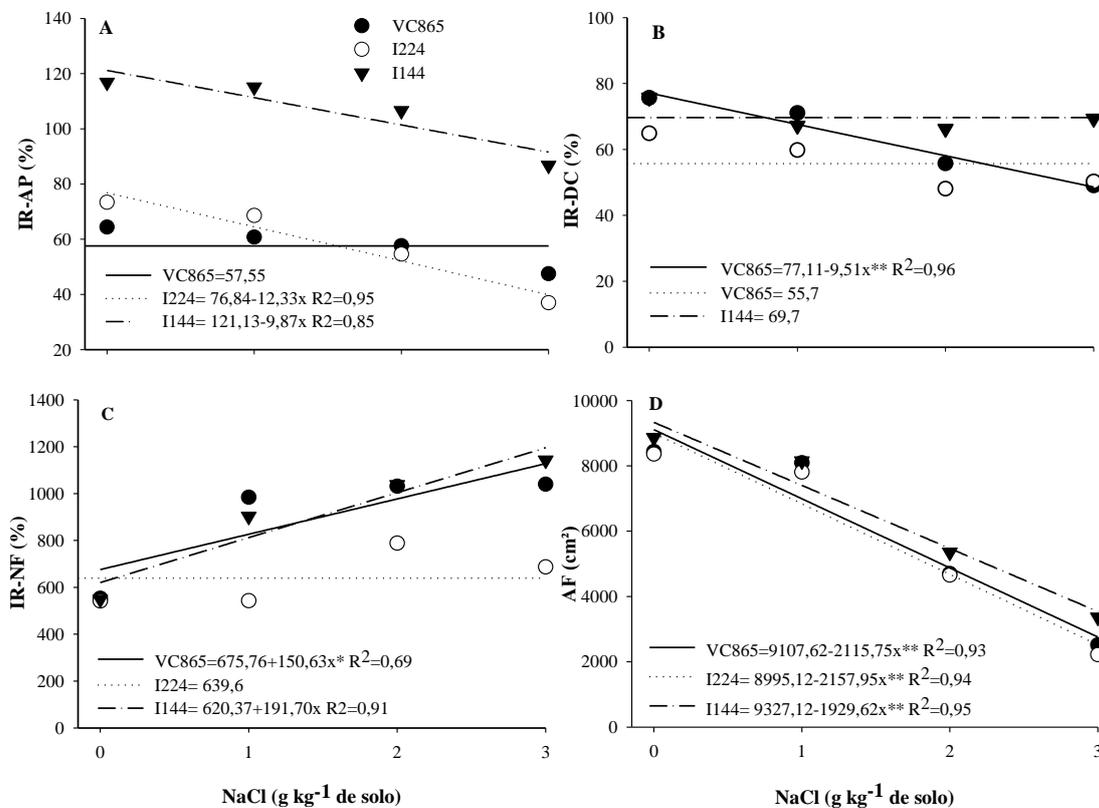
\*\* : significativo p < 0,01.

O incremento relativo da altura de planta não variou entre as concentrações de sal no solo para o clone VC865 que foi em média 57,5% (Figura 5A). Enquanto isso reduziu nos demais clones com o aumento da salinidade, em que no I224 essa redução foi de 48,1% da concentração salina de 0 a 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo, e no I144 foi de 24,4%, sendo este último o clone com maior incremento em altura.

Para o incremento relativo do diâmetro do caule, houve redução com o aumento da salinidade do solo de 37%, da menor para a maior concentração salina de solo no clone VC865, enquanto no I224 e I144 não houve alteração com o aumentando da salinidade, ficando uma média 55,7e 69,6%, respectivamente (Figura 5B). O IR-AP se correlacionou positivamente com  $\Psi_w$  meio-dia,  $K^+$ , APX, SOD, prolina, IR-DC, AF, todos os índices de tolerância, MSF e MSC, e teve correlação inversa com a relação  $Na^+/K^+$ ,  $H_2O_2$  e MDA, no maior nível de salinidade do solo (Tabela 2).

Diferente do IR-DC, o incremento relativo do número de folhas não foi alterado com o aumento da salinidade apenas no clone I224 que ficou em média 639,6%, enquanto aumentou nos demais clones (Figura 5C). Onde esse aumento foi 66,8% em VC865 e 92,7% em I144 com o acréscimo da salinidade de 0 para 3 g de NaCl  $kg^{-1}$  de solo. O IR-NF se correlacionou negativamente apenas com o MDA na salinidade de 3 g de NaCl  $kg^{-1}$  de solo (Tabela 2).

**Figura 5.** Incremento relativo da altura de planta – IR-AP (A) do diâmetro do caule – IR-DC (B) e do número de folhas – IR-NF (C), e área foliar - AF (D) em clones de eucalipto cultivados sob diferentes concentrações de salinidade do solo.



\* e \*\*: significativo p<0,05 e 0,01, respectivamente.

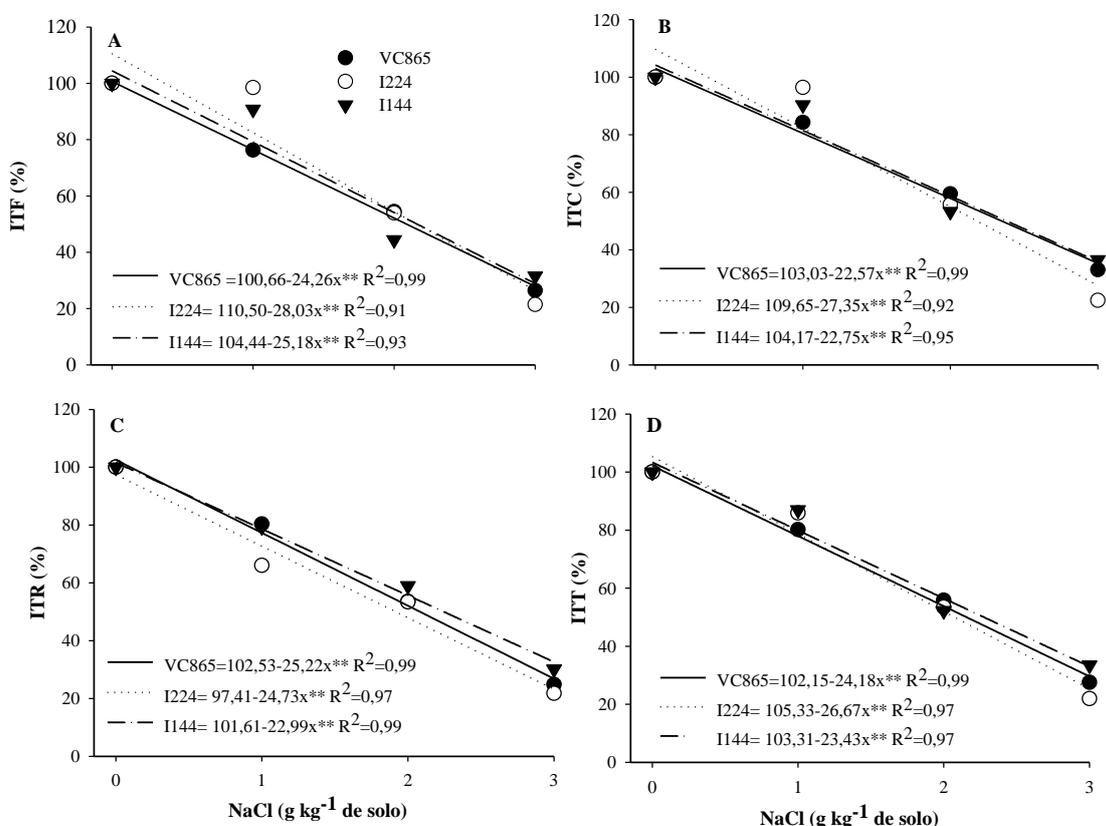
A área foliar foi afetada negativamente pela salinidade do solo em todos os clones, sendo I224 o mais afetado com o acréscimo da concentração de sal no solo, em que a área foliar reduziu 72%, enquanto em VC865 e I144 as reduções foram de 69,7 e 62%, respectivamente (Figura 5D). Essa variável se correlacionou positivamente com  $\Psi_w$  meio-dia,  $K^+$ , CAT, SOD, prolina, IR-AP, todos os índices de tolerância, MSF e MSC, e teve correlação negativa com a relação  $Na^+/K^+$ ,  $H_2O_2$  e MDA nas maiores concentrações de sais no solo (Tabela 2).

O aumento da salinidade do solo diminuiu os índices de tolerância das diferentes partes das plantas em todos os clones de eucalipto (Figura 2).

O índice de tolerância da folha reduziu em todos os clones (Figura 6A), representando reduções de 72,3; 76 e 72,3% para VC865, I224 e I144, respectivamente, com o aumento da salinidade de 0 até 3 g de  $NaCl\ kg^{-1}$  de solo. Da mesma forma, o índice de tolerância do caule reduziu 65,7; 74,8 e 65,5%, respectivamente em VC865, I224 e I144, com o aumento da salinidade de 0 até 3 g de  $NaCl\ kg^{-1}$  de solo (Figura 6B).

Do mesmo modo, o índice de tolerância da raiz teve maior redução (76,2%) no clone I224 com o aumento da salinidade do solo de 0 para 3 g de  $NaCl\ kg^{-1}$  de solo, enquanto os clones VC865 e I144 tiveram menor redução, de 73,8 e 67,8%, respectivamente (Figura 6C).

**Figura 6.** Índices de tolerância das folhas – ITF (A), do caule – ITC (B), da raiz – ITR (C) e total - ITT (D) em clones de eucalipto cultivados sob diferentes concentrações de salinidade do solo.



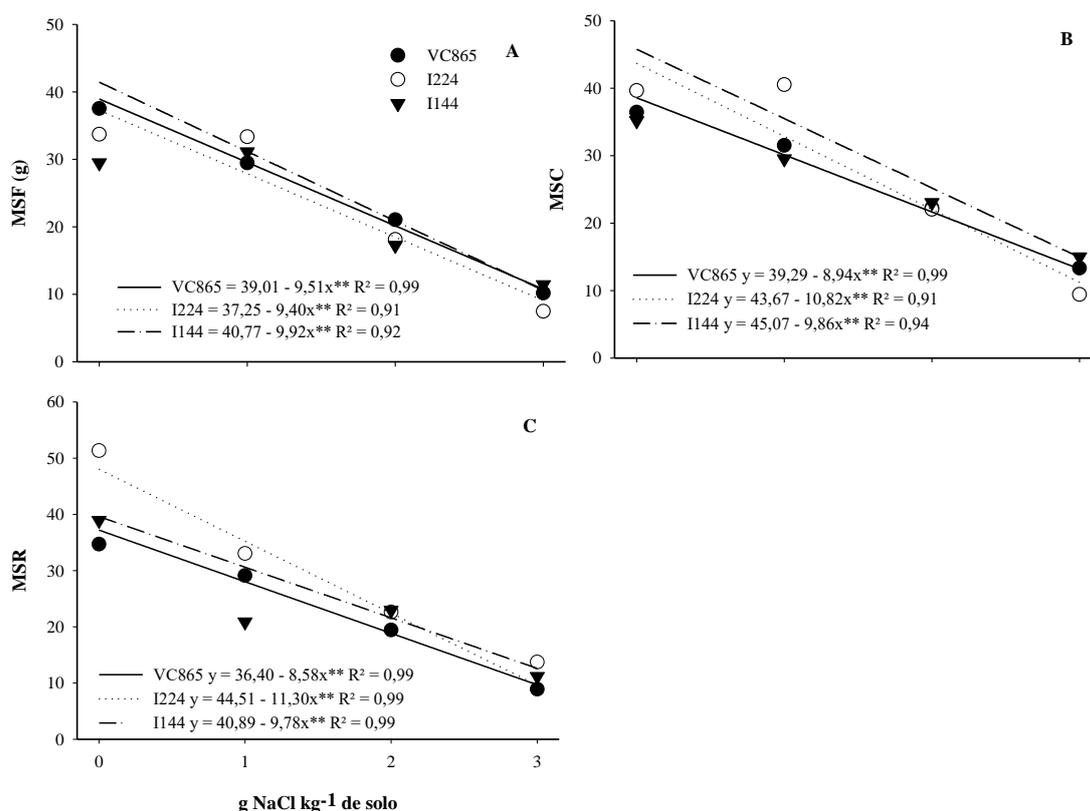
\*\* : significativo  $p < 0,01$ .

Em geral, o aumento da salinidade do solo de 0 para 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo reduziu o índice de tolerância total em 71; 75,9 e 68% nos clones VC865, I224 e I144, respectivamente. (Figura 6D). Os índices de tolerância das diferentes partes da planta se correlacionaram negativamente com a relação  $Na^+/K^+$ ,  $H_2O_2$  e MDA e positivamente com as demais variáveis, exceto  $\Psi_s$ ,  $Na^+$  e IR-NF nas concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo (Tabela 2).

As massas secas de folha, caule e raiz também reduziram com o incremento da salinidade do solo em todos os clones. Em VC865, I224 e I144 as reduções de MSF foram de 74,74; 75,67 e 73,01%, respectivamente, no maior nível de salinidade, quando comparado ao controle (Figura 7A). Já a massa seca de caule reduziu 68,28; 74, 35 e 65,76% na concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> em relação a concentração de 0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo nos respectivos clones (Figura 7B). Semelhante, a massa seca de raiz reduziu em VC865, I224 e I144 em 70,71; 76,16 e 71,75%, respectivamente, na concentração de 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> em relação a 0 g de NaCl kg<sup>-1</sup> (Figura 7C). A MSF

apresentou correlação positiva com  $\Psi_w$  ao meio-dia,  $K^+$ , APX, CAT, SOD, Prolina e MSC, e negativa com relação  $Na^+/K^+$ ,  $H_2O_2$  e MDA. As massas secas de folha e caule se correlacionaram inversamente com a relação  $Na/K$ ,  $H_2O_2$  e MDA e positivamente com todas as outras variáveis, com exceção de  $\Psi_s$ ,  $Na^+$  e IR-NF no maior nível de salinidade do solo (Tabela 2).

**Figura 7.** Massas secas de folha – MSF (A), caule – MSC (B) e raiz – MSR (C) em clones de eucalipto cultivados em diferentes níveis de salinidade do solo.

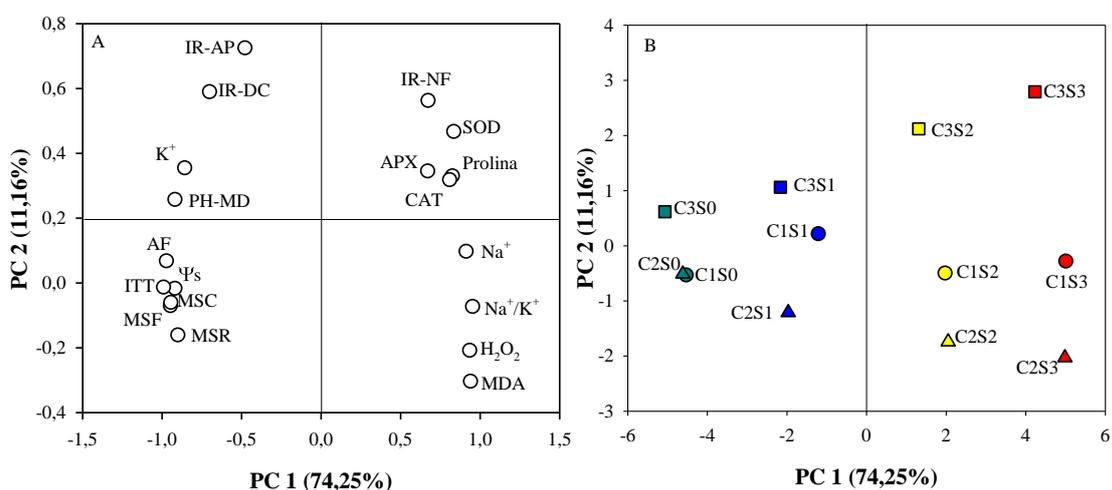


\*\* : significativo  $p < 0,01$ .

A análise de componentes principais mostrou que IR-NF, SOD, APX, CAT, prolina,  $Na^+$ ,  $Na^+/K^+$ ,  $H_2O_2$  e MDA contribuíram positivamente para a formação do PC1, o qual teve uma variação de 74,25%, enquanto as demais variáveis contribuíram negativamente. Já o PC2 que teve uma variação de 11,16% associou-se positivamente com IR-AP, IR-DC,  $K^+$  e  $\Psi_w$  MD e negativamente com as demais variáveis (Figura 8A). As variáveis favorecidas pela baixa salinidade foram posicionadas do lado esquerdo do gráfico, e as que se correlacionaram positivamente com a alta salinidade estão posicionadas do lado direito do gráfico (Figura 8A), ou seja, quando a salinidade do solo aumentou, IR-NF, SOD, APX, CAT, prolina,  $Na^+$ ,  $Na^+/K^+$ ,  $H_2O_2$  e MDA

também aumentaram. Ainda observou-se uma associação positiva do Clone I144 (C3) nos dois maiores níveis de salinidade de solo (S2 e S3) com IR-NF, SOD, APX, CAT e prolina (Figura 8B), indicando que esse clone em situação de estresse salino desencadeia mecanismos de proteção, sofrendo menor dano. Por outro lado, a relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , além das concentrações de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  e MDA contribuíram para o agrupamento dos demais clones (C1 e C2) nesses dois níveis de salinidade do solo, indicando maior sensibilidade desses clones ao estresse salino (Figura 8B).

**Figura 8.** Análise de componentes principais aplicada em três clones de eucalipto: VC865 (C1), I224 (C2) e I144 (C3) submetidos a quatro salinidades do solo: 0 (S1), 1 (S2), 2 (S3) e 3 g de NaCl kg<sup>-1</sup> de solo (S4). PC1 e PC2 representam a projeção das variáveis (A) e a distribuição dos tratamentos (B). Potencial hídrico ao amanhecer ( $\Psi_w$  PD) e meio-dia ( $\Psi_w$  MD), e osmótico ( $\Psi_s$ ),  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , prolina, SOD, APX, CAT,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , MDA, MSR, MSC, MSF, IR-AP, IR-DC, IR-NF, AF e ITT.



#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que o incremento da salinidade do solo afetou todas as variáveis estudadas. Os potenciais hídrico e osmótico foram reduzidos com o aumento da concentração de sais no solo, os quais estão inter-relacionados com o potencial de turgor nas células vegetais, sendo afetados quando as plantas são expostas a salinidade (ASHRAF, 2004). Dessa maneira, quando as plantas passam por um estresse osmótico devido à redução do potencial hídrico do meio externo, poderá responder com o estímulo à redução no potencial de solutos, a fim de assegurar a manutenção do turgor e a entrada de água na célula, promovendo o ajuste osmótico por meio de íons do meio externo ou pela produção de osmólitos compatíveis (SILVEIRA et al., 2010;

WILLADINO; CAMARA, 2010). Isso explica o que aconteceu neste estudo, pois o Clone I144 teve menor redução no seu potencial hídrico e maior redução no seu potencial osmótico, indicando que ele foi capaz de promover melhor ajuste osmótico, permitindo a entrada de água na célula e fazendo com que o seu potencial de turgor fosse mais elevado, aumentando assim o potencial hídrico.

Existem dois mecanismos bastante usados pelas plantas para tolerar o excesso de sais no solo, o primeiro consiste na limitação da captação de íons na raiz, e o segundo pela compartimentalização, principalmente o  $\text{Na}^+$  no vacúolo (ROY et al., 2014; BERTAZZINI et al., 2018). Portanto, o ajustamento osmótico se dá pelo aumento do teor de solutos orgânicos e inorgânicos na célula (SILVEIRA et al., 2010; WILLADINO; CÂMARA, 2010; MUNNS; GILLIHAM, 2015; TAIZ et al., 2017). Durante esse processo a planta absorve mais sais do solo, a fim de aumentar a concentração de solutos na célula, armazenando-os no vacúolo, ou pela produção de osmólitos compatíveis como a prolina, reduzindo assim seu potencial osmótico e fazendo com que a planta continue absorvendo água do meio externo. Nesse estudo, o Clone I144 foi capaz de concentrar mais  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  nos tecidos foliares, resultando em uma menor relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , além de ter produzido mais prolina, explicando a sua maior redução no potencial osmótico. Portanto, isso nos sugere que uma maior capacidade de crescer sob condições salinas não é simplesmente devido à limitação de  $\text{Na}^+$  para a parte aérea da planta, mas também a sua capacidade de estocar esse íon no vacúolo (BERTAZZINI et al., 2018). Isso pode ser comprovado, pois o clone I144 também apresentou menores reduções nas massas secas de folha e caule (Figura 5A).

Sob condições de salinidade, o genótipo de eucalipto que apresentou maior concentração foliar de  $\text{Na}^+$ , também teve maiores índices de clorofila e eficiência no uso da água (SIXTO et al., 2016). Trabalhando com duas cultivares de cevada sob estresse salino, Patterson et al. (2009) encontraram que a cultivar mais tolerante ao sal também foi a que mais acumulou  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  e teve maior relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$ . Xiong et al. (2018) também relatam que o maior acúmulo de  $\text{K}^+$  nas folhas de melão contribuiu para maior tolerância à salinidade. Resultados semelhantes aos encontrados nesse estudo também mostram que a espécie de eucalipto mais tolerante a salinidade teve maior concentração de prolina com o incremento da salinidade (SHARIAT; ASSAREH, 2016), visto que altos níveis de prolina podem desempenhar função protetora sob condições de estresse (KISHOR; SREENIVASULU, 2014; BERTAZZI et al., 2018).

Outro mecanismo de proteção das plantas sob salinidade consiste na eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que reduzem a peroxidação lipídica e o conteúdo de  $H_2O_2$  na célula (SIGNORELLI et al., 2013; ROSSATTO et al., 2017). As EROs como superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxila ( $HO^\cdot$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), são produzidas durante o metabolismo aeróbico da planta e podem ser tóxicas para a célula, sendo sua produção aumentada durante condições de estresse (SILVEIRA, 2010; WILLADINO; CAMARA, 2010; ROSSATTO et al., 2017). Essas EROs são eliminadas através do aumento da atividade de enzimas antioxidantes como SOD, APX e CAT, que reduzem a peroxidação lipídica e os níveis de peróxido de hidrogênio (ROSSATTO et al., 2017; BERTAZZI et al., 2018). A SOD é um das mais importantes enzimas antioxidantes que atua combatendo o estresse oxidativo promovido pelas EROs (SHVALEVA, 2006; KUMAR et al., 2018), sendo responsável por dismutar o  $O_2^-$  para  $H_2O_2$  e  $O_2$ , e considerada a primeira linha de defesa antioxidativa enzimática (SILVEIRA et al., 2010).

As enzimas APX e CAT também são consideradas importantes na proteção das células vegetais e outros organismos contra o estresse oxidativo, eliminando principalmente o  $H_2O_2$  (TAIBI et al., 2016; KUMAR et al., 2018). Em cultivares de mostarda sob estresse salino, foi observado que a atividade da APX foi bem maior na cultivar mais tolerante ao sal (KUMAR et al., 2018). Semelhante, em estudo com dois clones de Eucalipto sob estresse hídrico, foi observado que a atividade da enzima APX aumentou nas plantas sob estresse, sendo essa atividade mais intensa no clone mais tolerante ao estresse (SHVALEVA, 2006). Taibi et al. (2016) relataram aumento da atividade da CAT em folhas de *Phaseolus Vulgaris* L. tolerantes a salinidade. O mesmo ocorreu em arroz cultivado sob salinidade, em que houve maior atividade da catalase e menores níveis de  $H_2O_2$  nos genótipos mais tolerantes a salinidade (CHUNTHABUREE et al., 2016).

A peroxidação lipídica ocorre devido ao estresse oxidativo que é desencadeado quando altos níveis de EROs nas células afetam o seu funcionamento, promovendo a produção de radicais derivados de lipídeos (SOFO et al., 2015; ROSSATTO, 2017). O principal produto derivado da peroxidação é o malondialdeído (MDA), o qual pode ser responsável pela deterioração da membrana durante o estresse (KUMAR et al., 2018). Em genótipos de feijão sob salinidade, a produção de Malondialdeído foi menor no genótipo com alta produtividade em comparação com genótipo de menor produtividade,

indicando que altas concentrações de MDA indicam maior peroxidação de lipídeos, como consequência dos danos oxidativos (TAIBI et al., 2016).

Como visto nesse estudo, houve aumento na atividade das enzimas SOD, APX e CAT à medida que se aumentou a concentração de sais no solo, indicando que todos os clones ativaram o seu mecanismo de defesa antioxidante, exceto a atividade de APX nos clones VC865 e I244. Entretanto, o clone o I144 teve maior atividade dessas enzimas com o aumento da salinidade do solo, demonstrando ser mais tolerante ao estresse salino, assim como observado em plantas de arroz sob estresse salino em que a atividade da SOD aumentou nas plantas mais tolerantes a salinidade (Chawla et al., 2013). Enquanto isso, I224 teve menor atividade enzimática, demonstrando ser mais sensível.

A tolerância ou sensibilidade apresentada pelos clones pode ser comprovada pela correlação inversa existente entre os conteúdos de  $H_2O_2$  e MDA com a atividade das enzimas antioxidantes, em que o clone I144 teve menor concentração destes elementos e maior atividade de SOD, APX e CAT quando houve aumento da salinidade do solo, enquanto ocorreu o contrário no I224. A maior tolerância do clone I144 à salinidade do solo também pode ser explicada pela análise de componentes principais, em que a atividade dessas enzimas antioxidantes contribuiu para o agrupamento das plantas desse clone quando submetidas aos dois maiores níveis de salinidade do solo, enquanto o  $H_2O_2$  e MDA contribuíram para o agrupamento dos outros clones nessas mesmas concentrações de sais no solo.

Os resultados evidenciam a diferença entre os clones no crescimento das plantas, devido à salinidade do solo. Esse fator estressante prejudica o crescimento das plantas em decorrência do excesso de sais no solo, principalmente o íon  $Na^+$ , que promove efeitos tóxicos reduzindo a quantidade de água disponível para as plantas (MUNNS; TESTER, 2008; SILVA et al., 2012). Como consequência da limitação hídrica, as plantas mantêm suas células flácidas com redução na divisão e expansão celular (PLAZEK et al., 2013; OTTO et al., 2017), fato esse que explica maior redução no incremento relativo de altura de planta para o clone I224, configurando-o como o mais sensível à salinidade do solo. Já com relação ao incremento relativo do diâmetro do caule, o clone I224 manteve o seu incremento, mesmo apresentando os menores valores, enquanto o I144 teve maiores valores de IR-DC, e também manteve o incremento entre os níveis de sais. A manutenção no incremento relativo do caule pode ser uma resposta

adaptativa do clone em manter seu crescimento e, conseqüentemente, a produção de madeira sob condições salinas (FEIKEMA; BAKER, 2011; FERREIRA et al., 2017).

A salinidade do solo também provocou forte aumento no incremento relativo do número de folhas dos clones VC865 e I144, sendo este último o que teve maior crescimento. Silva et al. (2014) observaram que híbridos de eucalipto com baixo IR-NF foram mais sensíveis ao déficit hídrico, semelhante ao que ocorreu nesse estudo com o clone I224, sob estresse salino, o qual manteve os mais baixos valores de IR-NF. Isso ocorre porque as plantas tendem a reduzir o número de folhas com o aumento da salinidade do solo (VAARIO et al., 2011), afetando também a produção de biomassa e potencial energético (CHA-UM et al., 2013; FERREIRA et al., 2017). Por outro lado, os clones VC865 e I144 tiveram uma recuperação considerável na emissão de folhas entre os 30 e 60 DAT, provavelmente, por melhor aclimatação ao estresse salino durante o período.

A maior redução da área foliar demonstrada pelo clone I224 é mais um indicativo de sensibilidade ao estresse salino, como constatado por Cha-um et al. (2013) ao avaliarem a tolerância de diferentes genótipos de eucalipto a salinidade. Os autores verificaram que os genótipos mais sensíveis tiveram maior redução da área foliar, concomitante à redução da taxa fotossintética, refletindo baixa eficiência em razão da salinidade. Adicionalmente, as diferenças dos incrementos relativos no crescimento entre os clones indicam que o crescimento está interligado também às características genéticas, além das ambientais. Resultados semelhantes foram reportados por Silva et al. (2014) ao avaliarem híbridos de eucalipto sob déficit hídrico, os quais observaram que cada híbrido se sobressaiu diferente quanto ao incremento relativo de crescimento na classificação ao estresse hídrico. Isso sugere que a avaliação de outras características paralelas, como os índices de tolerância, a atividade das enzimas antioxidantes e acúmulo de íons e prolina, sejam importantes para corroborarem quanto à tolerância dos clones ao estresse salino.

O índice de tolerância foliar foi menor no clone I224, seguindo o mesmo comportamento do incremento relativo de altura de plantas, número de folhas e da área foliar. Tais resultados indicam que esse clone tem baixa tolerância foliar ao estresse salino, por sentir maior efeito do sal, além do estresse hídrico induzido. Isso ocorre, provavelmente devido ao fato de que durante o crescimento inicial, as plantas de eucalipto investem proporcionalmente mais energia na produção de folhas e, portanto, essa característica atua como uma das mais sensíveis ao estresse (SILVA et al., 2014),

podendo ser usada como um indicador da tolerância à salinidade (VAARIO et al., 2011).

Em relação ao índice de tolerância do caule, o clone I224 também teve maior redução com o aumento da salinidade do solo, ao contrário do I144. Essa maior redução do índice de tolerância do caule pode ser devido à redução da área foliar e, conseqüentemente, à queda na assimilação de carbono pela planta para produção de biomassa (SILVA et al., 2014). O aumento da salinidade está frequentemente associado à redução no crescimento das plantas, refletindo na diminuição do diâmetro do caule (SHARIAT; ASSAREH, 2016). Resultados encontrados nesse estudo corroboraram com os achados por Silva et al. (2014) em que o IR-DC reduziu com o aumento do estresse hídrico.

O mesmo aconteceu com a tolerância radicular que diminuiu com o aumento da salinidade, provavelmente pelo excesso de sais presentes na região radicular, bem como à tolerância de cada material, indicando o clone I144 como o mais tolerante por apresentar menor redução no índice de tolerância da raiz em função da salinidade. Chaum et al. (2013) observaram que genótipos de eucalipto mais tolerantes à salinidade tiveram pouca redução no comprimento da raiz, o que possivelmente está associado à maior massa seca e tolerância desse órgão.

Resultados semelhantes foram reportados por Aquino et al. (2007) e Sá et al. (2016), os quais verificaram que os índices de tolerância foram eficientes na seleção de genótipos de sorgo e mamoneira, respectivamente, à salinidade. Esses resultados confirmam, portanto, que os índices de tolerância de cada órgão do eucalipto, como já discutidos separadamente, foram importantes para selecionar e melhor compreender a tolerância dos clones ao estresse salino, pois além de terem a tendência de redução padronizada para cada clone, foram correlacionados entre si. Desse modo, sugere-se que os índices de tolerância dos diferentes órgãos das plantas de eucalipto aos 60 dias após o estresse, podem ser usados para discriminar clones tolerantes e sensíveis à salinidade. No entanto, outras características como os incrementos relativos de crescimento auxiliam na discriminação mais precisa, além do potencial hídrico foliar, do acúmulo de íons, da atividade de enzimas antioxidantes e da produção de massa seca.

Nesse estudo, as massas secas de folha, caule e raiz também foram afetadas pelo aumento da salinidade do solo, onde houve queda no valor destas variáveis em todos os clones, porém o I144 teve as menores reduções. Esse fato pode ser explicado pelo melhor ajuste osmótico e maior atividade antioxidante observados neste clone, além das

correlações entre a atividade de SOD, CAT e APX e acúmulo de prolina com a massa seca de folhas e do caule, principalmente no maior nível de salinidade. De modo semelhante, Lupi et al. (2016) e Shariat e Assareh (2016) encontraram, reduções nas massas secas com o aumento da salinidade em plantas de eucalipto, confirmando que a salinidade do solo afeta o desenvolvimento e produção do eucalipto.

## 5. CONCLUSÃO

Os clones de eucalipto responderam de forma diferenciada à salinidade do solo. O clone I144 apresentou menor redução no potencial hídrico, concentração de potássio, massa seca de folhas e de caule. Além disso, teve menor potencial osmótico associado ao aumento de sódio e prolina e baixa relação  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , indicando maior ajuste osmótico. Esse clone também apresentou maior atividade das enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT, maiores índices de incremento relativo e de tolerância, e menores conteúdos de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica sendo, portanto, considerado o mais tolerante à salinidade do solo. Por outro lado, os clones VC865 e I224 se apresentaram como moderadamente tolerante e sensível, respectivamente.

De maneira geral, com base nas variáveis avaliadas quanto à salinidade do solo, os clones de eucalipto se classificaram na seguinte ordem de tolerância: I144 > VC865 > I224.

## 6. REFERÊNCIAS

AHMAD, P. Oxidative damage to plants: antioxidant networks and signaling. **Academic Press**, 2014.

AHMED, C. B.; MAGDICH, S.; ROUINA, B. B.; BOUKHRIS, M.; ABDULLAH, F. B. Saline water irrigation effects on soil salinity distribution and some physiological responses of field grown Chemlali olive. **Journal of environmental management**, v. 113, p. 538-544, 2012.

AQUINO, A. J. S.; LACERDA, C. F.; BEZERRA, M. A.; GOMES FILHO, E.; Costa, R. N. T. Crescimento, partição de matéria seca e retenção de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  em dois genótipos de sorgo irrigados com águas salinas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 961-971, 2007.

ASHRAF, M. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 199, n. 5, p. 361-376, 2004.

BATES, L. S. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.

BERTAZZINI, M; SACCHI, G A; FORLANI, G. A differential tolerance to mild salt stress conditions among six Italian rice genotypes does not rely on Na<sup>+</sup> exclusion from shoots. **Journal of plant physiology**, v. 226, p. 145-153, 2018.

BLOISE, R. M.; MOREIRA, G. N. C. Métodos de análise de solos e calcário. Rio de Janeiro: **EMBRAPA-SNLCS**, 1976. 36p. (EMBRAPA-SNLCS. Boletim Técnico, 55).

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-250, 1976.

CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminum on lipid-peroxidation, superoxide-dismutase, catalase and peroxidase- activities in toor-tips of soybean (*Glycine max*). **Plant Physiology**, v. 83, p. 463-468, 1991.

CHA-UM, S.; SOMSUEB, S.; SAMPHUMPHUANG, T.; KIRDMANEE, C. Salt tolerant screening in eucalypt genotypes (*Eucalyptus spp.*) using photosynthetic abilities, proline accumulation, and growth characteristics as effective indices. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 49, p. 611-619, 2013.

CHAWLA, S.; JAIN, S.; JAIN, V. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of plant biochemistry and biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 27-34, 2013.

CHEN, D.; WANG, S.; CAO B.; CAO, D.; LENG, G.; LI, H.; YIN, L.; SHAN, L.; DENG, X. Genotypic variation in growth and physiological response to drought stress and re-watering reveals the critical role of recovery in drought adaptation in maize seedlings. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1-15, 2016.

CHUNTHABUREE, S.; DONGSANSUK, S.; SANITCHON, J.; PATTANAGUL, W.; THEERAKULPISUT, P. Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage. **Saudi journal of biological sciences**, v. 23, n. 4, p. 467-477, 2016.

DEINLEIN, U.; STEPHAN, A. B., HORIE, T., LUO, W., XU, G., SCHROEDER, J. I. Plant salt-tolerance mechanisms. **Trends in Plant Science**, v. 6, p. 371-9, 2014.

FEIKEMA, P. M.; BAKER, T. G. Effect of soil salinity on growth of irrigated plantation *Eucalyptus* in south-eastern Australia. **Agricultural Water Management**, v. 98, p.1180-1188, 2011.

FERREIRA, M. C.; SANTOS, R. C.; CASTRO, R. V. O.; CARNEIRO, A. C. O.; SILVA, G. G. C.; CASTRO, A. F. N. M.; COSTA, S. E. L.; PIMENTA, A. S. Biomass and energy production at short rotation *Eucalyptus* clonal plantations deployed in Rio Grande do Norte. **Revista Árvore**, v. 41, p. 1-7, 2017.

GANDONOU, C. B.; BADA, F.; GNANCADJA, S. L.; ABRINI, J.; SKALI-SENHAJI, N. Effects of NaCl on Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and K<sup>+</sup> ions accumulation in two sugarcane (*Saccharum* sp.) cultivars differing in their salt tolerance. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, Ilhas Vitória, v. 3, p. 155-162, 2011.

GHOLAMI, M.; MOKHTARIAN, F.; BANINASAB, B. Seed halopriming improves the germination performance of black seed (*Nigella sativa*) under salinity stress conditions. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v.18, n.1, p.21-26, 2015.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. – **Plant Physiology**. v. 59, p. 309-314, 1977.

GUPTA, B.; HUANG, B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International journal of genomics**, v. 2014, 2014.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

IQBAL, N.; UMAR, S.; KHAN, N.A.; KHAN, M.I.R. A new perspective of phytohormones in salinity tolerance: Regulation of proline metabolism. **Environmental and Experimental Botany**, v. 100, p. 34-42, 2014.

JAMES, R. A.; BLAKE, C.; ZWART, A. B.; HARE, R. A.; RATHJEN, A. J.; MUNNS, R. Impact of ancestral wheat sodium exclusion genes Nax1 and Nax2 on grain yield of durum wheat on saline soils. **Functional Plant Biology**, v. 39, p. 609-618, 2012.

JISHA, K.C.; VIJAYAKUMARI, K.; PUTHUR, JOS T. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.35, p.1381-1396, 2013.

KISHOR, P.B. K.; SREENIVASULU, N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? **Plant, cell & environment**, v. 37, p. 300-311, 2014.

KUMAR, M.; KUMAR, R.; JAIN, V.; JAIN, S. Differential behavior of the antioxidant system in response to salinity induced oxidative stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of Brassica juncea L. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 13, p. 12-19, 2018.

LUPI, A. M.; PATHAUER, P. S.; NETTO, V.; CAPPALÀ, E. P. Evaluación del crecimiento y estado nutricional de híbridos interespecíficos de *Eucalyptus* sometidos a estrés por anegamiento y salinidad. **Ciencia del suelo**, v. 35, p. 57-68, 2016.

MAGGIO, A.; RAIMONDI, G.; MARTINO, A.; PASCALE, S. Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. **Environmental and Experimental Botany**, v. 59, p. 276–282, 2007.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, cell and environment**, v. 25, n. 2, p. 239-250, 2002.

MUNNS, R.; GILLIHAM, M. Salinity tolerance of crops – what is the cost? **New phytologist**, v. 208, n. 3, p. 668-673, 2015.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanism of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p.651-681, 2008.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant Cell Physiology**, v. 22, n. 05, p.867-880, 1981.

OTTO, M. S. G.; FRANCISCO, J. G.; GONSALEZ, B. T.; CALVO, L. A.; MATTOS, E. M.; ALMEIDA, M.; MORAL, R. A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; STAPE, J. L.; OLIVEIRA, R. F. Changes in c-aminobutyric acid concentration, gas exchange, and leaf anatomy in *Eucalyptus* clones under drought stress and rewatering. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 39, p. 1-13, 2017.

PATTERSON, J. H.; NEWBIGIN, E. D.; TESTER, M.; BACIC, A.; ROESSNER, U. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 4089-4103, 2009.

PLAZEK, A.; TATRZAŃSKA, M.; MACIEJEWSKI, M.; KOSCIELNIAK, J.; GONDEK, K.; BOJARCZUK, J.; DUBERT, F. Investigation of the salt tolerance of new Polish bread and durum wheat cultivars. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 2513-2523, 2013.

RICHARDS, L. A. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Agriculture Handbook. **US Department of Agriculture, Washington**, v. 60, 160p. 1954.

ROSSATTO, T.; AMARAL, M. N.; BENITEZ, L. C.; VIGHI, I. L.; BRAGA, E. J. B.; MAGALHAES JÚNIOR, A. M.; MAIA M. A. C. PINTO, L. S. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 23, p. 865-875, 2017.

ROY, S J.; NEGRÃO, S; TESTER, M. Salt resistant crop plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, p. 115-124, 2014.

SÁ, F. V. S.; BRITO, M. E. B.; SILVA, L. de A.; MOREIRA, R. C. L.; FERNANDES, P. D.; FIGUEIREDO, L. C. Fisiologia da percepção do estresse salino em híbridos de tangerineira - Sunki Comum sob solução hidropônica salinizada. **Comunicata Scientiae**, v.6, p.463- 470, 2015.

SÁ, F. V. S.; PAIVA, E. P.; MESQUITA, E. F.; BERTINO, A. M. P.; BARBOSA, M. A.; SOUTO, L. S. Tolerance of castor bean cultivars under salt stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, p.557-563, 2016.

SHABALA, S.; POTTOSIN, I. Regulation of potassium transport in plants under hostile conditions: implications for abiotic and biotic stress tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 151, p. 257–279, 2014.

SHARIAT, A.; ASSAREH, M. H. Physiological and Biochemical Responses of Eight *Eucalyptus* Species to Salinity Stress. **ECOPERSIA**, v. 4, p. 1269-1282, 2016.

SHVALEVA, A. L.; SILVA, F. C. E.; BREIA, E.; JOUVE, J.; HAUSMAN, J. F.; ALMEIDA, M. H. CHAVES, M. M. Metabolic responses to water deficit in two

*Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. **Tree Physiology**, v. 26), p. 239-248, 2006.

SIGNORELLI, S.; COITIÑO, E.L.; BORSANI, O.; MONZA, J. Molecular mechanisms for the reaction between %OH radicals and proline: insights on the role as reactive oxygen species scavenger in plant stress. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, p. 37-47, 2013.

SILVA, A. L. L.; OLIVEIRA, Y.; DIBAX, R.; COSTA, J. L.; SCHEIDT, G. N.; MACHADO, M. P.; GUERRA, E. P.; BRONDANI, G. E.; ALVES, S. A. O. Hydroponics growth of *Eucalyptus saligna* Sm. on salt-stress mediated by sodium chloride. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, p. 213-218, 2012.

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

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEY, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. Manejo da Salinidade na Agricultura: Estudos Básicos e Aplicados. Fortaleza, **INCTSal**, p. 161-180, 2010.

SIXTO, H.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, B. D.; MOLINA-RUEDA, J. J.; GARRIDO-ARANDA, A.; SANCHEZ, M. M.; LÓPEZ, G.; GALLARDO, F.; CAÑELLAS, I.; MOUNET, F.; GRIMA-PETTENATI, J.; & CANTÓN, F. *Eucalyptus* spp. and *Populus* spp. coping with salinity stress: an approach on growth, physiological and molecular features in the context of short rotation coppice (SRC). **Trees**, v. 30, n. 5, p. 1873-1891, 2016.

SOFO, A.; SCOPA, A.; NUZZACI, M.; VITTI, A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 13561-13578, 2015.

STANISAVLJEVIĆ, N.S.; NIKOLIĆ, D.B.; JOVANOVIĆ, Ž.S.; SAMARDŽIĆ, J.T.; RADOVIĆ, S.R. & MAKSIMOVIĆ, V.R. Antioxidative enzymes in the response of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) to complete submergence. **Archives of Biological Sciences**, v. 63, p. 399-405, 2011.

TAIBI, K.; TAÏBI, F.; ABDERRAHIM, L. A.; ENNAJAH, A.; BELKHODJA, M.; MULET, J. M. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 306-312, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017. 858p.

TURKAN, I.; DEMIRAL, T. Recent developments in understanding salinity tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v.6, n.1, p.2-9, 2009.

VAARIO, L.-M., YRJÄLÄ, K., ROUSI, M., SIPILÄ, T. & PULKKINEN, P. Leaf number indicates salt tolerance of young seedling families of European Aspen (*Populus tremula* L.) growing in different soils. **Silva Fennica**, v. 45, p. 19-33, 2011.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**. V. 151, p. 59–66, 2000.

WANI, S.H.; SINGH, N.B.; HARIBHUSHAN, A.; MIR, J.I. Compatible solute engineering in plants for abiotic stress tolerance role of glycine betaine. **Current genomics**, v. 14, p. 157-165, 2013.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, n. 11, p. 1-23, 2010.

XIONG, M.; ZHANG, X.; SHABALA, S.; SHABALA, L.; CHEN, Y.; XIANG, C.; NAWAZ, M. A.; BIE, Z.; WU, H.; YI, H.; WU, M.; HUANG, Y. Evaluation of salt tolerance and contributing ionic mechanism in nine Hami melon landraces in Xinjiang, China. **Scientia Horticulturae**, v. 237, p. 277-286, 2018.

## APÊNDICES



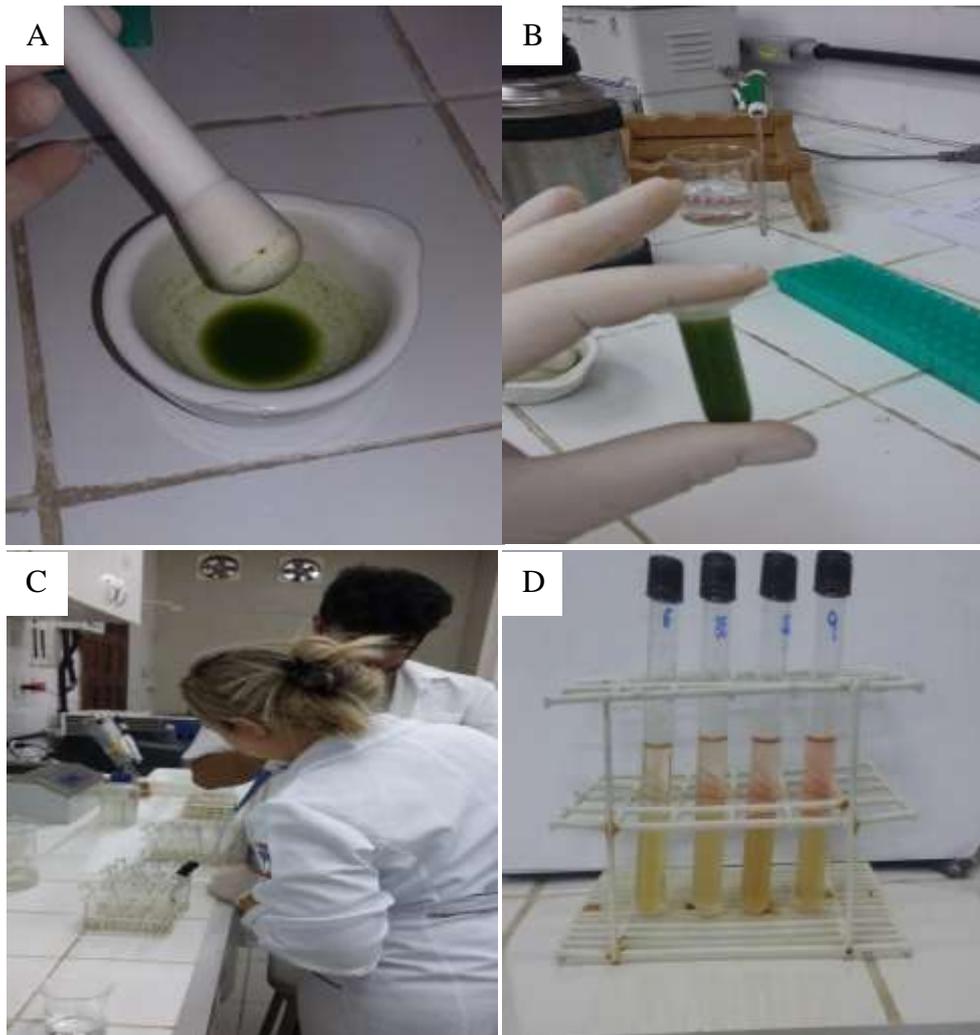
**Apêndice 1.** mudas de Eucalipto com 120 dias transplantadas dos tubetes para os sacos plásticos.



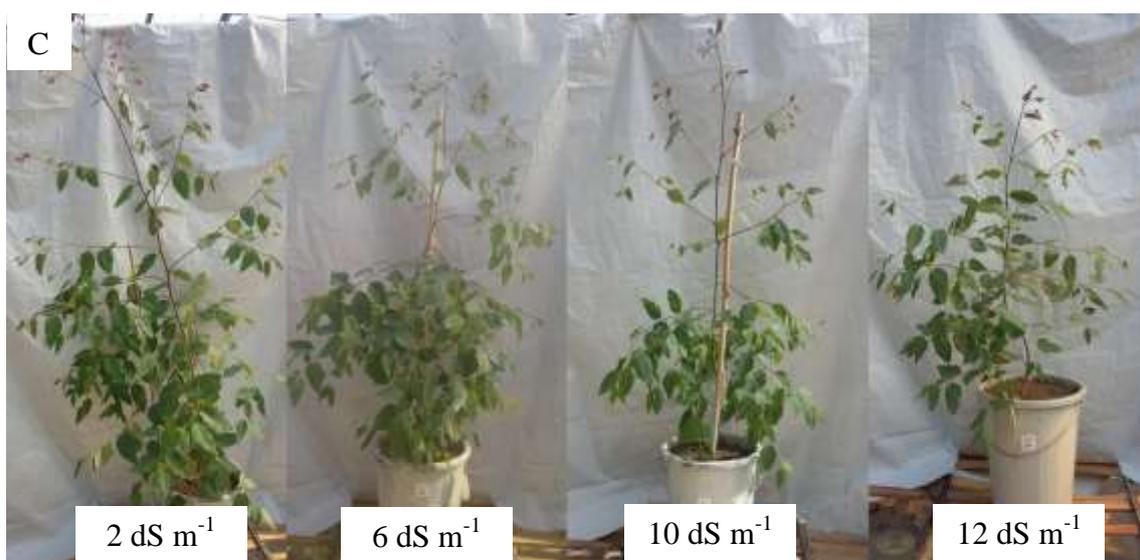
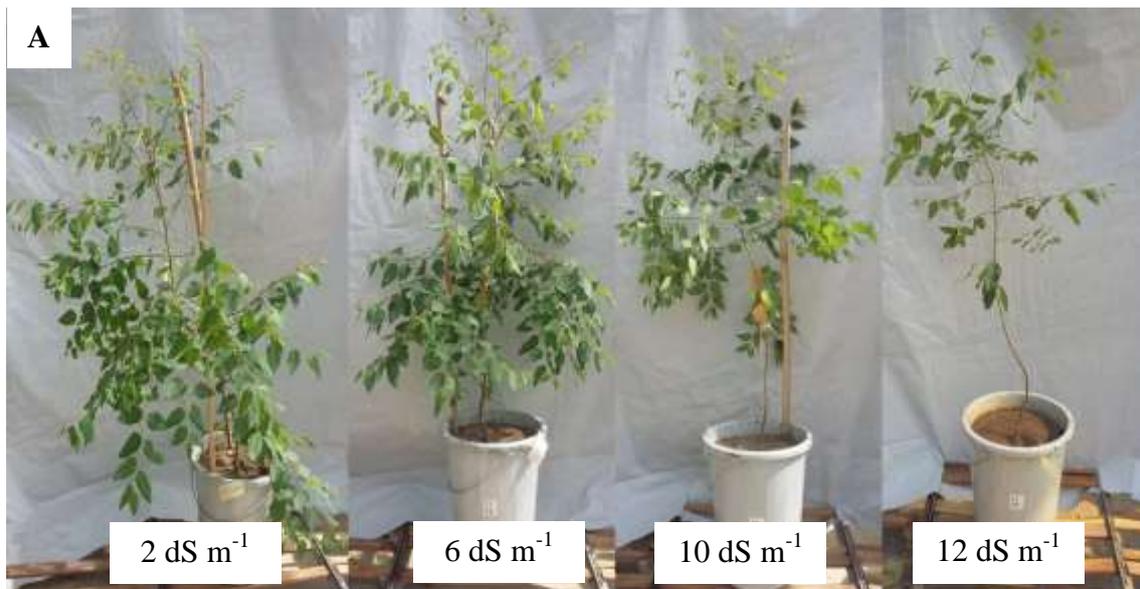
**Apêndice 2.** Clones de Eucalipto com 10 (A) e (60) dias após o transplante para os vasos.



**Apêndice 3.** Alguns registros das coletas de dados. Coleta de folhas para as análises bioquímicas (A), avaliação do índice SPAD (B), medidor de área foliar (C), medições de trocas gasosas com o Irga (D e E).



**Apêndice 4.** Análises bioquímicas: maceração (A), extrato obtido, antes da centrifugação (B), pipetagem do extrato após a centrifugação (C) e extrato em meio de reação (D).



**Apêndice 5.** Clones de eucalipto sob os quatro diferentes níveis de salinidade do solo: VC865 (A), I224 (B) e I144 (C) aos 60 dias após o transplântio.