UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal



Dissertação

Características biométricas, trocas gasosas e atividade do sistema antioxidante de plantas de Eucalipto durante o crescimento inicial

Dominique dos Santos Delias

Dominique dos Santos Delias

CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS, TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DE EUCALIPTO DURANTE O CRESCIMENTO INICIAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Dra. Ilisandra Zanandrea

Co-Orientador: Dr. Marcos Antonio Bacarin

Dados de catalogação na fonte: Ubirajara Buddin Cruz - CRB 10/901 Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

D353c

Delias, Dominique dos Santos

Características biométricas, trocas gasosas e atividade do sistema antioxidante de plantas de eucalipto durante o crescimento inicial / Dominique dos Santos Delias. – 71 f. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2013. – Orientador Ilisandra Zanandrea; co-orientador Marcos Antonio Bacarin.

1.Eucaliptus grandis. 2.Eucaliptus saligna. 3.Eucalipto. 4.Temperatura. I.Zanandrea, Ilisandra. II.Bacarin, Marcos Antonio. III.Título.

CDD: 634.97342

Banca examinadora:

Dr^a. Ilisandra Zanandrea

Dr. Luciano do Amarante

Dr.Antelmo Ralph Falqueto

Dr^a. Emanuela Garbin Martinazzo (suplente)

TUDO POSSO NAQUELE QUE ME FORTALECE Filiperses 4:13

Todas as coisas são trabalhosas; o homem não o pode exprimir; os olhos não se fartam de ver, nem os ouvidos se enchem de ouvir. Eclesiastes 1:8

Agradecimentos

A Deus, por me mostrar sempre um novo caminho. Por permitir realizar meus sonhos e me mostrar que tudo vale a pena, desde o grão de areia até o oceano. E por colocar pessoas certas e erradas no meu caminho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq, pela bolsa de estudo concedida.

A professora Ilisandra Zanandrea, pela orientação, paciência, ensinamentos e apoio. Ao professor Marcos Antonio Bacarin, por receber-me em seu laboratório durante todo o período de pesquisa, permitindo a realização do experimento junto a sua equipe do Laboratório de Metabolismo Vegetal -UFPel.

Aos estagiários e bolsistas de iniciação científica (Aline Ramm, Márcio Farias, Pablo Valadão, Henrique Chiarelo, Liamara Thurow e Douglas Posso), pelo empenho durante a execução do trabalho.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV), pela convivência e amizade.

Aos professores e funcionários do PPGFV, pelos ensinamentos e apoio recebido.

A Anelise Tessari Perboni e Emanuela Martinazzo, pois além de colegas de laboratório foram grandes amigas. Obrigado pelos momentos de companheirismo.

A José Alberto Orrego Júnior e Luciane Piovesan pelo carinho, compreensão e amizade.

Aos meus pais Claudecir e Eunice, pelo incentivo e carinho durante todas as etapas da minha vida.

As minhas irmãs Désiré, Jéssica e afilhada Monique por trazerem mais alegria ao meus dias.

E por fim, a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

Lista de Figuras

- **Figura 1:** Dados climáticos dos anos de 2010, 2011 e 2012 na região de Pelotas, RS.
- **Figura 2:** Massa seca (g) das raízes (A e B), do caule (C e D), das folhas (E e F) e total (G e H) de plantas de *E. saligna* (*Es*) e *E. grandis* (*Eg*) durante 12 meses.
- **Figura 3:** Diâmetro do caule (cm) a 10 cm do solo (A), e na metade da altura da planta (B) em plantas de *E. saligna* (*Es*) e *E. grandis* (*Eg*) durante 12 meses.
- **Figura 4:** Incremento de altura (cm) de plantas de *E. saligna* (*Es*) e *E. grandis* (*Eg*) durante 12 meses.
- **Figura 5:** Número de folhas em plantas de *E. saligna (Es)* e *E. grandis (Eg)* durante 12 meses.
- **Figura 6:** Área foliar (cm²) em plantas em plantas de *E. saligna (Es)* e *E. grandis (Eg)* durante 12 meses.
- **Figura 7:** Atividade da Superóxido Dismutase em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. grandis* e *E. saligna* durante 12 meses.
- **Figura 8:** Atividade da Catalase em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. grandis* e *E. saligna* durante 12 meses.
- **Figura 9:** Atividade da ascorbato peroxidase em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. saligna* e *E. grandis* durante 12 meses.
- **Figura 10:** Peróxido de Hidrogênio em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. saligna* e *E. grandis* durante 12 meses.
- **Figura 11:** Peroxidação Lipídica em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. grandis* e *E. saligna* durante 12 meses.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Taxa assimilatória líquida de CO_2 (A, μ mol $m^{-2}s^{-1}$), concentração intracelular de CO_2 (C_i , μ mol mol^{-1}) condutância estomática (gs, mol m^{-2} s^{-1}) e taxa transpiratória (E, mmol m^{-2} s^{-1}) em plantas de E. saligna (Es) e E. grandis (Eg) durante 12 meses.

RESUMO

Delias, Dominique dos Santos CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS, TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DE EUCALIPTO DURANTE O CRESCIMENTO INICIAL 2013. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. Orientador: Prof^a. Dr^a. Ilisandra Zanandrea; Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin.

Eucalyptus é um gênero originário da Austrália e vem apresentando rápida expansão em várias regiões do Brasil, devido principalmente a sua ampla capacidade de aclimatação. Porém existem regiões que apresentam determinadas características climáticas que podem limitar o crescimento e o desenvolvimento dessas plantas, resultando em estresse abiótico. Nesse contexto, monitorar o crescimento inicial de mudas permite conhecer espécies que melhor sobrevivem frente ao ambiente heterogênio, possibilitando a produção de mudas de boa qualidade. Este trabalho teve por objetivo analisar o comportamento das características biométricas, trocas gasosas e atividade do sistema antioxidante de plantas de duas espécies de eucalipto, Eucalyptus grandis e E. saligna, durante o crescimento inicial. As coletas foram realizadas mensalmente de julho de 2011 a julho de 2012. Mudas provenientes de viveiro foram transplantadas, no mês de maio de 2011, para sacos plásticos de 5L, contendo uma mistura de terra e areia (2:1). Foram avaliadas características biométricas (diâmetro do caule a 10 cm da base e na metade da altura da planta, altura, número de folhas, área foliar e massa seca das folhas, caule, raízes e total), bioquímicas (atividade das enzimas Superóxido Dismutase, Catalase e Ascorbato Peroxidase, quantificação de peróxido de Hidrogênio e peroxidação lipídica) e trocas gasosas (taxa assimilatória líquida de CO₂, concentração intracelular de CO₂, taxa transpiratória e condutância estomática. Os resultados demonstraram que E. saligna apresentou maior crescimento quando comparado com E. grandis. Em relação às analises bioquímicas, E. grandis teve maior atividade das enzimas antioxidantes no início e no final do experimento, coincidindo com as épocas de frio, diferindo de E. saligna que apresentou aumento na atividade só no segundo ciclo de frio. Para trocas gasosas, houve diferença entre as espécies e entre os tempo de avaliação. De maneira geral, verificou-se que plantas de E. grandis e E. saligna apresentaram respostas semelhantes frente às condições climáticas da região estudada, e as pesquisas de crescimento inicial confirmam sua adaptabilidade às condições climáticas do Rio Grande do Sul.

Palavras- chave: Eucaliptus grandis, Eucaliptus saligna, temperatura.

ABSTRACT

Delias, Dominique dos Santos **BIOMETRIC CHARACTERISTICS, GAS EXCHANGE AND OXIDANT SYSTEM ACTIVITY OF EUCALYPTUS PLANTS DURING THE INICIAL GROWTH** 2013. Adviser: Prof^a. Dr^a. Ilisandra Zanandrea; Co-adviser: Prof. Dr. Marcos Antonio Bacarin.

Eucalyptus is a genus with origin in Australia and has expanding in several regions of Brazil, mainly due to its wide aclimatation. But there are certain regions with climatic characteristics that may limit the growth and development of eucalyptus plants, resulting in abiotic stress. In this context, monitoring the inicial growth of plants allows us a better understanding about species that survive better against the heterogeneous environment, enabling the good quality seedlings production. This work aimed to analyze the behavior of biometric characteristics, gas exchange and the antioxidant system activity of plants of two species of Eucalyptus, E. grandis and E. saligna during inicial growth. Samples were collected monthly between 2011 July and 2012 July. On 2011 May, nursery seedlings were transplanted to 5 L plastic bags, containing a mixture of soil and sand (2:1). We evaluated biometric characteristics (stem diameter at 10 cm from the soil, diameter at half height of the plant stem, plant height, leaf number, leaf area and dry weight of leaf, stem, root and total dry weight), biochemical characteristics (activity of Superoxide Dismutase, Catalase and Ascorbate Peroxidase enzymes, quantification of hydrogen peroxide and lipid peroxidation) and gas exchange (rate of CO₂ assimilation, intracellular concentration of CO₂, stomatal conductance and transpiration). The results showed that E. saligna had higher growth than E. grandis. Regarding biochemical analyzes, E. grandis had higher activity of antioxidant enzymes at the beginning and end of the experiment, that represents the cold seasons. E. saligna showed increased activity only in the second season of cold. For gas exchange differences occurred between species and between the evaluations times. In general, it was found that plants E. grandis and E. saligna showed similar responses face of climatic conditions of the region studied, and this research confirms their initial growth adaptability to climatic conditions of Rio Grande do Sul State.

Key-words: Eucaliptus grandis, Eucaliptus saligna, temperature.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES

A: Taxa assimilatória Líquida

ABRAF: Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas

APX: Ascorbato Peroxidase

CAT: Catalase

Ci: Concentração intercelular de CO₂

DNA: Ácido desoxirribonucléico

DHAR: Deidroascorbato Redutase

E: Taxa Transpiratória

EROs: Espécies reativas de oxigênio

gs: Condutância Estomática

H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio

IPEF: Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais

MDA: Malonaldeído

MDHA: Monodeidroascorbato

MDHAR: Monodeidroascorbato Redutase

N₂: Nitrogênio

NBT: azul de nitrotetrazólio

PIB: Produto Interno Bruto

PVPP: Polivinil polipirrolidona

REMADE: Revista da Madeira

RNA: Ácido ribonucleico

SOD: Superóxido Dismutase

TCA: Ácido Tricloroacético

TBA: Ácido 2-tiobarbitúrico

Sumário

CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS, TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE DO SISTEMA ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DE EUCALIPTO DURANTE O CRESCIMENTO INICIAL

1.	Introdução1	4
2.	Revisão Bibliográfica1	6
	2. 1 A cultura do eucalipto1	6
	2. 2 Influência de fatores ambientais1	19
	2. 3 Análise de crescimento	21
	2.4Fotossíntese	23
	2.5 Trocas gasosas e transpiração	24
	2. 6 Atividade antioxidante	26
3.	Material e Métodos2	28
	3.1 Condições ambientais do experimento	28
	3. 2 Crescimento Vegetativo	29
	3. 3 Trocas Gasosas	29
	3.4. Avaliações Bioquímicas2	29
	3. 4. 1. Enzimas do metabolismo antioxidante2	<u> 2</u> 9
	3. 4. 2 Superóxido Dismutase –SOD	30
	3. 4. 3 Catalase – CAT	30
	3. 4. 4 Ascorbato Peroxidades – APX	31
	3. 4. 5 Peroxidação Lipídica	31
	3. 4. 2 Peróxido de Hidrogênio	31
	3. 5 Análise estatística	
4.	Resultados	33
	4.1 Caracterização climática durante o período experimental	33
	4.2 Análise de Crescimento	33
	4.3 Trocas gasosas	40
	4.4 Análises Bioquímicas	41

5.Discussão46		
5. 1 Analise de Crescimento	46	
5.2 Trocas Gasosas	48	
5.3 Análises Bioquímicas	51	
6. Conclusões	56	
7. Referências bibliográficas		

1. INTRODUÇÃO

Eucalyptus é um gênero que pertence à família Myrtaceae e que compreende aproximadamente 700 espécies, apresentando dois grandes centros de dispersão, nas Américas e na Austrália.

Apresenta um conjunto de fatores que contribuem para sua expansão, como rápido crescimento, alta produtividade florestal e aumento e direcionamento de novos investimentos de empresas que utilizam a madeira do eucalipto como matéria prima para a produção de mourões, postes e carvão, produção de celulose e papel, extração de essências e ornamentação (PAIVA; VITAL, 2008; ABRAF, 2010).

O potencial produtivo das florestas plantadas em regiões tropicais, especialmente no Brasil, é muito superior a outras regiões do globo, com poucas exceções, e essa superioridade se deve às condições ambientais favoráveis e a eficiência da tecnologia empregada no seu cultivo.

A grande diversidade de espécies de eucalipto possibilita a adaptação da cultura às diversas condições de clima e solo, e facilidades de propagação, tanto por sementes como por via vegetativa, o que justifica sua boa aceitação no mercado (FINGER et al., 1993; IPEF, 2005; VILAS BÔAS, 2009; FREITAS JUNIOR, 2012). Às características desejáveis citadas, somam-se o conhecimento acumulado sobre silvicultura e manejo do eucalipto e o melhoramento genético, que favorecem ainda mais a utilização do gênero para os mais diversos fins (IPEF, 2005).

Com o aumento da demanda por produtos oriundos do eucalipto, tornou-se necessário aumentar a produtividade da cultura. A produção de mudas de boa qualidade é importante, pois tem impacto direto no sucesso da implantação e estabelecimento da cultura, e por isso é importante conhecer a relação entre o crescimento e desenvolvimento da planta na fase de muda e o

ambiente (GOMES et al., 2002; MANTOVANI et al., 2003; MARTINS, 2007).

O crescimento e o desenvolvimento da planta são complexos e resultam da interação entre processos fisiológicos influenciados pela constituição genética e pela disponibilidade de recursos do ambiente. Dentre os fatores ambientais que influenciam o crescimento, destacam-se a temperatura, a quantidade de radiação fotossinteticamente ativa, a disponibilidade de nutrientes e a umidade relativa, embora a temperatura do ar seja o fator que mais influencia o desenvolvimento da maioria das espécies vegetais (HODGES, 1991; YIN et al., 1995; YAN & HUNT, 1999), incluindo o eucalipto (BATTAGLIA et al., 1996).

Estudos relacionando temperatura do ar, fenologia e desenvolvimento de espécies florestais têm recebido grande atenção apenas em países de clima temperado e pouca atenção em países de clima tropical, onde o crescimento e o desenvolvimento das plantas são muito variáveis (SANDS & LANDSBERG, 2002).

Na região sul do Brasil, sujeita a invernos rigorosos, com frequente formação de geada, o plantio de espécies de eucalipto não apresenta resultados muito satisfatórios. A geada limita o desenvolvimento de plantas de eucalipto, pois a capacidade de aclimatação à geada é limitada, ocasionando danos severos à cultura. Desta forma, é importante a realização de estudos mais detalhados a respeito do crescimento inicial de *E. grandis* e *E. saligna,* por serem espécies que apresentam grande importância econômica no Brasil, além de serem objeto de discussão em função da baixa tolerância às geadas, fator que pode causar muitas perdas em produtividade.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou analisar características biométricas, trocas gasosas e atividade do sistema antioxidante de plantas de duas espécies de eucalipto durante o crescimento inicial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do eucalipto

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae, subfamília *Leptospermoideae*. É originário da Austrália e regiões próximas, como Indonésia, Timor, Papua-Nova-Guiné, Moluscas, Irian Jaya e sul das Filipinas, com centro de origem da maioria no continente Australiano, localizadas nas altitudes de 30 m a 2.000 m e latitudes de 13º a 44º Sul (MARTINS, 2003).

Eucalyptus grandis e Eucalyptus saligna são nativas da costa leste da Austrália (MARCHIORI & SOBRAL, 1997), apresentam rápido crescimento, variando de 43 a 55 m de altura, e 122 a 180 cm de diâmetro na altura do peito. E. grandis possui excelente forma de tronco, e é cultivado em mais de meio milhão de hectares plantados em áreas de clima tropical e subtropical, sendo uma das mais importantes espécies comerciais de eucalipto no Brasil (LOPES, 2003; MESKIMEN & FRANCIS, 2006). A área de distribuição de origem do E. grandis apresenta clima subtropical úmido, com temperatura mínima dos meses mais frios entre 2 e 10 °C e máxima nos meses mais quentes de 29 °C (MESKIMEN & FRANCIS, 2006). Já E. saligna desenvolvese melhor em regiões com clima temperado à subtropical. Adaptou-se bem no Brasil e por esta razão é muito utilizada em plantios comerciais (MARCHIORI & SOBRAL, 1997; TONINI, 2003). Tem raízes superficiais bastante rasas reduzindo sua capacidade de sobreviver em locais secos (MCMAHON, 2010). No Brasil, as regiões onde se desenvolvem melhor estão localizadas nos Estados do Rio Grande do Sul, Minas Gerais e São Paulo (TRUGILHO, 1995).

Eucalyptus é o gênero florestal mais dominante e produtivo do Brasil, com mais de três milhões de hectares plantados e manejados intensivamente, principalmente para a obtenção dos produtos como polpa celulósica, papel, madeira para serraria e geração de energia (ABRAF, 2006; SANSÍGOLO, 2011; FERNANDES, 2012).

A madeira provinda do eucalipto é responsável pelo abastecimento da maior parte do setor industrial de base florestal do Brasil, e as espécies mais utilizadas são o *E. grandis* (55%), *E. saligna* (17%), *E. urophylla* (9%), *E. viminalis* (2%), híbridos de *E. grandis* x *E. urophylla* (11%) e outras espécies (6%). *E. grandis* é usada como matéria-prima para a produção de polpa de celulose, além de apresentar excelentes características silviculturais para plantio comercial e as altas taxas de rendimento. Além disso, fornece excelente deslignificação e branqueamento, proporcionando resultados positivos na fabricação de papel (SANSÍGOLO, 2011).

A importância da cultura do eucalipto para o Brasil pode ser avaliada pela participação do setor florestal na economia do país. Inicialmente apoiado por incentivos fiscais ao reflorestamento, e também pelos Programas Nacionais de Siderurgia a Carvão Vegetal, de Celulose e Papel. Em 2001, o setor respondia por 4% do PIB (produto interno bruto), 700 mil empregos diretos e dois milhões de empregos indiretos. Adicionalmente, a contínua expansão do setor florestal brasileiro, baseado em plantações, principalmente com eucaliptos, possibilita a exportação de US\$ 2 bilhões por ano (SANTOS, 2001).

A cultura de eucalipto no Brasil vem apresentando crescimento sequencial e hoje podemos verificar através de números a sua importância. Segundo a Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas – (ABRAF), em 2010, a área ocupada por plantios florestais de eucalipto no Brasil atingiu cerca de 4.754.334 ha (ABRAF, 2011). O florestamento com eucalipto no Brasil vem apresentando crescimento médio de 7,1% nos últimos cinco anos (CARBONARI et al., 2012).

O eucalipto apresenta um conjunto de fatores que contribuem para sua expansão, entre eles os aspectos mais relevantes como a sua fácil adaptação a diversas condições climáticas, o seu rápido crescimento em ciclo de curta rotação, a alta produtividade florestal e o aumento e direcionamento de novos investimentos de empresas que utilizam a madeira do eucalipto como matéria prima (ABRAF, 2010). Além de ser utilizado na produção de celulose, papel, chapa de fibras, madeira serrada, móveis, painéis e óleos essenciais. Outras vantagens adicionais são a proteção do solo contra

erosões, capacidade de captação de CO₂, geração de energia (carvão e lenha), tanino (curtimento do couro) e mel (visando a polinização) (CORNIANI, 2009).

A grande diversidade de espécies de eucalipto possibilita adaptação da cultura às diversas condições de clima e solo, e facilidades de propagação, tanto por sementes como por via vegetativa, o que também aumenta sua aceitação no mercado (FINGER et al., 1993; IPEF, 2005).

Em 1868 foram plantadas as primeiras mudas no Rio Grande do Sul, por Frederico de Albuquerque (FERREIRA & SANTOS, 1997) e, no mesmo ano, também foram plantados alguns exemplares na Quinta da Boa Vista, Rio de Janeiro. Até o princípio do século XX, o eucalipto foi plantado para fins ornamentais e também para uso como quebravento (CORNIANI et al., 2009). No ano de 2006, o Rio Grande do Sul foi reconhecido como o quinto maior produtor de eucalipto do Brasil com uma área plantada de 179.690 hectares, sendo aproximadamente 30% dessa área é ocupada por *Eucalyptus grandis* (ABRAF, 2011).

Atualmente, diante da pressão ambiental exercida acerca da exploração de florestas nativas como fonte de matéria-prima, os reflorestamentos tornaram-se importantes alternativas na confecção de produtos de madeira. Entretanto, com um mercado em crescimento e cada vez mais comprometido com qualidade, seria fora de propósito abster-se da derrubada dessas matas nativas se não houvesse uma opção adequada tanto no aspecto ecológico quanto no produtivo. Assim, aliado à elevação do valor econômico e escassez das madeiras nobres, o uso diversificado do eucalipto vem apresentando um papel fundamental no setor florestal brasileiro (SOUZA et al., 2011).

Plantações florestais de rápido crescimento constituem um recurso renovável de fundamental importância para atender a demanda global crescente por produtos derivados de biomassa lenhosa. Nas próximas décadas, produtividades florestais crescentes e refinamentos na qualidade dos produtos de madeira por meio de melhoramento genético, tornar-se-ão cada vez mais estratégicos para todos os setores industriais de base florestal (REMADE, 2011). Apesar do rápido crescimento existe uma procura para

solucionar futuros problemas ocasionados por mudanças, principalmente climáticas, há um grande desafio em entender melhor o impacto dessas mudanças nos plantios florestais. O aumento da temperatura do ar, a redução da incidência de chuvas e, principalmente, o aumento da concentração de CO₂ na atmosfera, caso os mecanismos de redução e remoção não sejam eficientes, podem afetar o crescimento das plantas.

Outro fator importante que favorece a utilização de florestas plantadas é a tendência mundial de expansão dos mercados para a "madeira ambientalmente correta", ou seja, certificada com o chamado "selo verde". Aliando todos esses fatores com a globalização dos mercados consumidores, tem-se uma crescente necessidade de aumento na produtividade e de atendimento de padrões de qualidade cada vez mais exigentes, estimulando a exploração da madeira de espécies exóticas como, por exemplo, as pertencentes ao gênero *Eucalyptus* (TREVISAN, 2010).

Com o aumento da demanda por produtos oriundos do eucalipto, tornou-se necessário elevar a produtividade da cultura. A produção de mudas de boa qualidade é importante, pois tem impacto direto no sucesso da implantação e estabelecimento da cultura, e por isso é importante conhecer a relação entre o crescimento e o desenvolvimento da planta na fase de muda e o ambiente (GOMES et al., 2002; MANTOVANI et al., 2003).

2.2 Influência de fatores ambientais

A produtividade das florestas plantadas varia consideravelmente e vários são os fatores que contribuem para isso. Para o entendimento básico da ecofisiologia da produção florestal e como os fatores ambientais interagem com a fisiologia das espécies, é importante o estudo contínuo dessas relações, e o uso de material genético de eucalipto pode ser de relevância para o êxito de um povoamento florestal (TATAGIBA, 2006).

Os fatores ambientais que podem influenciar o metabolismo do vegetal são: radiação solar incidente, umidade relativa do ar, temperatura do ar, velocidade do vento, precipitação e pressão. Esse conjunto de fatores também descrevem as condições climáticas de uma região apta ou não ao

cultivo de determinada espécie vegetal (PEREIRA et al., 2002; GOMES, 2009; PIVETTA, 2010).

O Rio Grande do Sul é um Estado sujeito a períodos de frio e geada, normalmente entre os meses de julho a setembro. Essa característica climática pode tornar-se limitante à produtividade econômica, e até mesmo à sobrevivência de algumas espécies que possam vir a ser introduzidas na região, o que aumenta os riscos para o sucesso da atividade florestal. A seleção de espécies tolerantes ao frio é de fundamental importância para o sucesso da atividade florestal em áreas que possuem baixa temperatura, uma vez que o crescimento e o desenvolvimento das plantas são afetados por fatores bióticos e abióticos, dentre eles a temperatura e o conteúdo de água no solo. Quando uma espécie vegetal ocorre ao longo de um ambiente heterogêneo, o problema básico da cultura reside na adaptabilidade à variedade das condições ambientais, pois essas espécies estão sujeitas às condições de múltiplos estresses, os quais limitarão seu crescimento e desenvolvimento (LARCHER, 2006).

As plantas são capazes de perceber o estímulo do meio ambiente e desencadear respostas que permitam sua sobrevivência frente a diferentes condições de estresse abiótico, como frio, geadas, seca e salinidade. O estresse devido ao frio representa uma limitação para plantas que crescem em clima subtropical, como é o caso de espécies de eucalipto cultivadas na Região Sul do Brasil. No entanto devido a essas condições ambientais é conveniente o desenvolvimento de estudos que visem à seleção precoce de material genético para reflorestamento e outras práticas com fins comerciais. Pelo fato de existir variação na adaptação às condições climáticas de regiões específicas, muitas empresas florestais têm buscado obter materiais genéticos aptos às condições ambientais prevalecentes (TATAGIBA, 2006).

Conforme Hodges (1991); Yan e Hunt (1999); Streck (2002), a temperatura do ar é o principal elemento meteorológico que afeta o desenvolvimento da maioria das espécies vegetais. Temperaturas inferiores à temperatura ótima tendem a reduzir o crescimento (CERQUEIRA, 2011; ISEPPON, 2011; LOPES, 2011; FLORIANI, 2013) a eficiência fotossintética (COSTA e SILVA, 2008; RIBEIRO, 2009; LARCHER, 2010; MACHADO,

2010; SANTOS, 2011) e a capacidade de absorção e transporte de água pelas raízes (TONELLO, 2010).

Apesar da capacidade de rápida aclimatação de fluxos metabólicos e adaptações específicas, bem como do desenvolvimento de mecanismos de tolerância a certos estresses, as plantas são frequentemente expostas a eventos repentinos de estresse a curto ou longo prazo que, eventualmente, reduzem a atividade das células e o crescimento da planta. Isso pode levar a graves danos, podendo ocasionar morte celular, se os mecanismos de enfrentamento do estresse ou mecanismos de reparo sobrecarregados (PERBONI et al., 2012). Uma das principais estratégias para melhorar a produtividade das culturas é a compreensão dos processos fisiológicos, bioquímicos e genéticos que são alterados por determinados tipos de estresses (MARTINAZZO et al., 2013).

Geralmente, qualquer tipo de estresse é medido em relação à sobrevivência das plantas, ao crescimento, à produtividade, ou processos assimilatórios primários como a absorção de CO₂ e nutrientes (LOPES et al., 2011).

2.3 Análise de crescimento

A análise de crescimento ajuda na identificação de espécies vegetais tanto nas condições ótimas ao desenvolvimento, quanto em condição de adaptação, além de gerar informações referentes à interação entre as espécies ou genótipos estudados com o ambiente (ANDRADE et al., 2005; PEREIRA, 2010).

O vegetal é constituído de várias partes como folhas, caule e raízes, que apresentam capacidade de explorar o ambiente objetivando sua própria sobrevivência, sendo que qualquer modificação no ambiente pode ocasionar alterações no vegetal. Através das folhas, a planta recebe energia solar, realizando fotossíntese e síntese de metabólitos, enquanto as raízes absorvem nutrientes e água da solução do solo, os quais se juntam aos metabólitos e são utilizados para o desenvolvimento e o crescimento das plantas (WOLSCHICK et al., 2007).

Conforme Taiz & Zeiger (2013), a razão da biomassa de raízes para a parte aérea parece ser governada por um balanço funcional entre absorção de água pelas raízes e fotossíntese pela parte aérea. O incremento da matéria seca com relação à área foliar pode, muitas vezes, estar relacionada às mudanças anatômicas internas das folhas, como a redução do tamanho das células, a maior densidade do sistema vascular e a maior quantidade de parênquima paliçádico em relação ao parênquima lacunoso (NOBEL, 1991). A medida da biomassa é um instrumento útil na avaliação de ecossistemas (SCHUMACHER, 2001), na conversão de energia e ciclagem de nutrientes, na absorção e armazenamento de energia solar, possibilitando conclusões para o manejo racional dos ecossistemas (TONELLO, 2010; FERNANDES, 2012).

O número de folhas está relacionado com o surgimento de vários estádios de desenvolvimento e com a expansão da área foliar, a qual está relacionada com a interceptação da radiação solar, fotossíntese e acúmulo de biomassa (STRECK et al., 2005 a, b; DELLAI et al., 2005).

Do ponto de vista de plantações de eucalipto, é importante quantificar o índice de área foliar, assim como sua variação ao longo do seu ciclo produtivo, pois a partir desta quantificação torna-se possível sua utilização como variável de entrada em modelos hidrológicos e de crescimento (PEREIRA, 2010). O índice de área foliar varia com o material genético, com idade da planta e com as condições ambientais (ALVES, 2011).

O comportamento da planta frente a diferentes ambientes é estudado por muitos pesquisadores através da combinação de alguns parâmetros morfológicos, como altura, atributos de vigor (massa total, massa da parte aérea, diâmetro de colo, relação altura / diâmetro de colo; relação parte aérea/parte radicular), capacidade de enraizamento (massa, comprimento, superfície ativa, frequência de micorrizas nas raízes; porcentagem de raízes), capacidade de assimilação (ramificação, formação de folhas, qualidade e quantidade de brotos) (NOVAES, 1998; TOLEDO, 2012).

Queiroz de Oliveira (2012) utilizou parâmetros de crescimento para avaliar o comportamento de dois híbridos de eucalipto (Grancam e Urograndis) no estágio inicial de desenvolvimento, submetidos a tratamentos

sem irrigação e irrigados. Em trabalho conduzido por Reis et al. (2006), observou-se o crescimento em altura de clones adultos de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* e de *E. camaldulensis* x *E.* spp., submetidos a dois regimes de irrigação no campo.

Alves (2012), estudando o crescimento de 16 clones do gênero eucalyptus com diferentes doses de adubações usou dados de crescimento como a altura e o diâmetro, para avaliar a influência das adubações visando identificar melhores materiais genéticos para a obtenção de povoamentos de elevada produtividade.

2.4 Fotossíntese

O processo fotossíntetico pode ser considerado a principal rota biossintética da vida no planeta Terra. Em um ano, cerca de 7 x 10⁹ toneladas de carbono são fixados em compostos orgânicos. Isto equivale a 1% das reservas conhecidas de combustíveis fósseis (carvão, gás e petróleo) e cerca de 10 vezes o consumo mundial de energia (LA VEGA, 2003).

A fotossíntese é um dos mecanismos que governam o crescimento, e pode ser definida como um processo físico—químico que ocorre nas folhas de organismos fotossintéticos para a sintese de compostos orgânicos a partir de matéria-prima inorgânica na presença de luz solar (LOPES., 2003; RAVEN, 2013).

A luz, fonte primária de energia relacionada à fotossíntese, juntamente com a disponibilidade de CO₂, são influentes fatores no desenvolvimento, crescimento e produção dos vegetais (PEREIRA, 2011). A luminosidade é um fator importante sobre a condutância estomática, sendo um dos principais componentes que regulam o processo fotossintético nas plantas (AASAMAA e SÕBER, 2011), podendo também atuar diretamente no ajustamento dos aparatos fotossintéticos quanto à forma de absorção, transmissão e utilização da energia disponível (GONÇALVES et al., 2010).

Dixon et al. (1990) salienta que a fotossíntese pode ser utilizada como ferramenta para indicar condições de estresses causadas pelo ambiente e na seleção de condições de crescimento apropriadas para diferentes espécies,

por ser um dos processos fisiológicos fundamentais na modelagem de aspectos de crescimento da árvore. Segundo MARTINAZZO (2013), sabe-se que o padrão sazonal da atividade fotossintética é variável entre populações que crescem sob condições de campo e/ou sob estresses abióticos.

Fernandes (2012) relata que o estresse ambiental pode diminuir a taxa de fotossíntese não só por causa dos efeitos prejudiciais sobre a bioquímica celular, mas também por causa de mudanças na difusão de CO₂ da atmosfera para o local de carboxilação.

Em climas subtropicais como no Rio Grande do Sul, é normal a ocorrência de grandes variações ambientais onde as mudanças significativas na radiação solar e temperatura ocorrem durante ciclos diurnos e sazonais (RIBEIRO et al., 2009) Nos meses de inverno, há queda na atividade fotossintética, e essa queda na fotossíntese ocorre devido à queda na radiação solar, menor disponibilidade de água no solo, temperaturas diurnas/noturnas mais baixas e queda da demanda por fotoassimilados pela planta, devido ao menor crescimento (SANTOS, 2011).

Grandes variações nas condições ambientais podem resultar em alterações na taxa fotossintética, portanto dependendo da espécie vegetal e do nível de variação climática pode haver estresse à planta.

2.5 Trocas gasosas e transpiração

Medições das trocas gasosas em plantios florestais de regiões com diferentes características de clima e solo têm sido utilizadas como ferramenta para avaliar, em nível pontual, as respostas da produtividade primária (BARTON, 2011) de espécies florestais diante das variações diurnas e/ou sazonais (CHAVES, 2001; LIMA et al., 2003).

As informações concedidas através da observação das trocas gasosas possibilita o entendimento do mecanismo de abertura e fechamento estomático e dos processos associados à fotoproteção, além de permitir compreender os mecanismos que regulam a entrada de CO₂ e a perda de água pelas folhas. Tais eventos apresentam importância significativa para a

sobrevivência vegetal, em ambientes onde a planta é submetida a períodos prolongados de estresse (ENNAHLI; EARL, 2005).

Nas plantas superiores, o movimento estomático é o principal mecanismo de controle das trocas gasosas, pois através dos estômatos ocorre o influxo de CO₂ e efluxo de água (NOBEL, 1991; BAESSO, 2011; TAIZ & ZEIGER, 2013).

Vários fatores influenciam diretamente o movimento dos estômatos, entre eles estão a radiação solar, déficit de pressão de vapor, concentração de CO₂ na atmosfera e a temperatura do ar (BALDOCHI et al., 1991; HINCKLEY & BRAATNE, 1994). Esses fatores ambientais interagem com a planta podendo desencadear vários processos, como a redução da condutância estomática, uma vez que os estômatos controlam o fluxo de vapor d'água e balanço de energia entre o vegetal e o ambiente (FERNADES, 2012). Os efeitos na taxa assimilatória líquida de CO₂ e condutância estomática, devido ao aumento na concentração de CO₂ varia nos experimentos com árvores florestais (WARREN, 2011).

Ainda que a redução de perda de água possa representar uma vantagem imediata para prevenir a desidratação do tecido, esta, no entanto, pode afetar diretamente o balanço de calor sensível sobre o vegetal, e a absorção de CO₂ (BRUNINI & CARDOSO, 1998; FAGAN, 2005; LUZ, 2008; CORDEIRO 2012). Segundo Damatta (2003), quando o estômato se fecha para proteger a planta da perda de água, ele, simultaneamente, restringe a difusão do CO₂ atmosférico e, consequentemente, provoca queda na taxa fotossintética.

A demanda evaporativa da atmosfera é resultante das relações entre radiação solar, déficit de pressão de vapor, temperatura e velocidade do vento. Apresentam efeitos diretos sob as perdas de água por transpiração nas plantas de eucalipto, como da maioria de outras espécies vegetais. A transpiração pode ser afetada por mecanismos de resposta estomática relacionada a fatores ambientais, estrutura da copa, pelo índice de área foliar e disponibilidade de água no solo (BIANCHI, 2007; DIAS, 2008; GARCIA, 2012; RASCON, 2012).

2.6 Atividade antioxidante

O aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) pode ser observado em determinadas condições de estresse, quando não pode ser mantido um equilíbrio da sua formação e detoxificação (ZANANDRÉA et al., 2009). O acúmulo de EROs pode ser potencialmente prejudicial às células da planta, provocando danos em biomoléculas como o DNA, RNA, proteínas e membranas celulares (JALEEL et al., 2009). Em condições de estresse severo, pode ocorrer um aumento considerável na produção de EROs, as quais podem levar a uma cascata de eventos que inicia com a peroxidação de lipídeos, avança para degradação de membranas e morte celular (GREGGAINS et al., 2000; PANDA & KHAN, 2009). Dentre as principais EROS que causam danos celulares destacam-se o radical superóxido (O2°-), radical hidroxila (OH°), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio singleto (¹O₂) (PASTORI & FOYER, 2002; APEL & HIRT, 2004; LIRA, 2012).

Em condições normais, o oxigênio é relativamente não reativo e não tóxico, devido à estrutura estável dos elétrons na sua camada externa. Entretanto, alterações na distribuição dos elétrons podem provocar a sua ativação e influenciar os sistemas biológicos. Cabe ressaltar que em condições ambientais normais os radicais livres são um produto natural do metabolismo aeróbico, sendo que 2 a 3% do oxigênio consumido pela célula são convertidos em radicais livres, que contêm um ou mais elétrons livres em sua órbita. Esses radicais passam a ter um efeito prejudicial ao organismo quando existe aumento excessivo na sua produção ou diminuição de agentes oxidantes, resultando em estresse oxidativo (RESENDE et al., 2003).

As EROs podem ser geradas dentro das células como resultado da excitação no elétron externo, formando $^{1}O_{2}$, ou de uma sucessiva adição de elétrons ao O_{2} molecular produzindo O_{2}^{*-} , $H_{2}O_{2}$ e OH^{*} . Por serem eletronicamente instáveis, estas moléculas são altamente reativas com um grande número de compostos, retirando um elétron a fim de se estabilizar (ALVES, 2012)

Para eliminar essas espécies reativas, as plantas apresentam

sistemas enzimáticos antioxidantes que constituem uma importante defesa primária contra os radicais livres gerados sob condições de estresse (CARNEIRO et al., 2011). A primeira enzima que faz parte do sistema antioxidante enzimático é a SOD, considerada uma enzima chave, uma vez que, além de remover o ânion superóxido (O2*) é capaz de controlar outras EROs (BOWLER et al., 1992; BRAMORSKI, 2011; OLIVEIRA; 2012). A superóxido dismutase, que catalisa a reação do radical superóxido à H₂O₂; catalase que produz água (H₂O) e oxigênio (O₂) a partir do H₂O₂; e enzimas do ciclo ascorbato-glutationa, como a ascorbato peroxidase que detoxifica o H₂O₂ produzido pela SOD (BEN AHMED, 2009; JALEEL et al., 2009).

A SOD está presente em todos os compartimentos celulares susceptíveis ao estresse oxidativo (BOWLER et al., 1992; ADAMSKI, 2011). A CAT e a APX localizam-se, predominantemente, em peroxissomas, entretanto, pode ser encontrada também no citosol, em mitocôndrias ou em cloroplastos (CAKMAK et al., 1993; WILLEKENS et al. 1995; NEMOTO et al., 1996, CAVERZAN, 2008; PIRES, 2012).

Em uma condição de estresse, normalmente ocorre acumulo de acetaldeído que pode ser usado como doador de elétrons ativando o O^{2*-} que ao sofrer dismutação pela ação da SOD forma H₂O₂ cujo nível (desintoxicação) é regulado pela catalase, por diversas peroxidases e pelo ciclo ascorbato-glutationa (PEREIRA, 2010). Esse ciclo é caracterizado por uma série de reações redox acopladas (JIMÉNEZ et al., 1998).

Uma redução na atividade da APX pode provocar um aumento das EROs e induzir danos oxidativos, prejudicando o desenvolvimento da planta. Esta enzima utiliza o ascorbato como doador específico de elétrons para reduzir o H₂O₂ à água, gerando monodeidroascorbato, que pode ser diretamente reduzido a ascorbato pela ação da MDHAR (SHIGEOKA et al., 2002; ZANANDREA, 2009; RIBEIRO, 2012).

A indução da peroxidação de lipídios é um dos efeitos mais danosos das EROs e um indicativo de sua produção, devido à sua reação com ácidos graxos insaturados, causando a ruptura de membranas essenciais da plasmalema ou de outras organelas intracelulares, formando compostos como o MDA (SCANDALIOS, 1993; PEREIRA, 2012; LIRA, 2012; COSTA, 2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Condições ambientais do experimento

O experimento foi conduzido no período compreendido entre julho de 2011 e julho de 2012 no Campus da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), no Município do Capão do Leão, RS. As avaliações bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UFPel.

Os dados meteorológicos de temperatura mínima, máxima e média diária, e pluviosidade foram coletados durante o experimento, através de boletins concedidos pela Estação Agroclimatológica de Pelotas. O clima dessa região caracteriza-se por ser temperado com chuvas bem distribuídas, sendo constituído por quatro estações bem definidas: inverno (entre 21 de junho e 23 de setembro, com temperaturas baixas), verão (entre 21 de dezembro e 21 de março, com temperaturas elevadas), separados por estações intermediárias com aproximadamente três meses de duração, e chuvas bem distribuídas ao longo do ano.

Foram avaliadas duas espécies de eucaliptos: *Eucalyptus grandis* W. Hill e *Eucalyptus saligna* Sm. Plantas com aproximadamente um ano de idade foram obtidas em viveiro comercial, transplantadas para sacos plásticos com capacidade para 5L, contendo como substrato uma mistura de solo (previamente corrigido/adubado) e areia (2:1 v/v), acondicionadas em ambiente aberto no mês de maio de 2011. Sessenta dias após o transplantio, foram iniciadas as avaliações e as coletas realizadas mensalmente durante um período de 348 dias.

3. 2 Crescimento Vegetativo

A avaliação do crescimento vegetativo foi realizada em cinco plantas, separando-se as raízes, caule e folhas, acondicionadas separadamente em sacos de papel e secas em estufa com circulação de ar forçada, a 70°C por um período de 72 h e posterior pesagem em balança analítica. A área foliar foi estimada utilizando um medidor de área foliar (Modelo LI-3100 Li-Cor Inc., Lincoln, NE).

Adicionalmente, foram avaliados o número de folhas, altura das plantas e diâmetro do caule. A altura das plantas foi avaliadas medindo-se a distância entre o coleto e o ápice caulinar por meio de uma régua milimetrada, e as medidas do diâmetro de caule foram adquiridas através de paquímetro (Mod. 799 paquímetro eletrônico digital Starret®) sendo realizadas duas medidas, uma a 10 cm do solo e outra na metade da altura da planta.

3.3 Trocas Gasosas

As trocas gasosas foram medidas com um analisador portátil a infravermelho de CO₂ (modelo LI-6400XT LI-COR, Inc., Lincoln, NE, USA), junto a fonte luminosa LI-COR 6400-02, acoplada à câmara de medida, com concentração de CO₂ no interior da câmara de 380 mol mol⁻¹ e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativo de 1.500 μmol m⁻² s⁻¹. As leituras foram realizadas entre as 10:00 e 11:00 horas da manhã, na primeira folha superior madura, completamente expandida e as variáveis medidas foram: taxa assimilatória líquida de CO₂ (A, μmol CO₂ m⁻² s⁻¹); condutância estomática (g_S, mol H₂O m⁻² s⁻¹); concentração intercelular de CO₂ (C_i, Pa) e taxa transpiratória (*E*, mmol m⁻² s⁻¹).

3. 4 Avaliações Bioquímicas

3. 4. 1 Enzimas do Metabolismo Antioxidante

Para a extração das enzimas antioxidantes, foram macerados aproximadamente 300 mg de tecido foliar e radicular em N₂ líquido e homogeneizados em tampão de extração: fosfato de potássio 100 mM, pH 7,8

contendo EDTA 0,1 mM, ácido ascórbico 1 mM. Os homogeneizados foram centrifugados a 13.000 *g* por 20 min a 4°C, coletando-se os sobrenadantes para as análises enzimáticas da superóxido dismutase – SOD (**EC** 1. 15. 1. 1), catalase – CAT (**EC** 1. 11. 1. 6) e ascorbato peroxidase – APX (**EC** 1. 11. 1. 11) adaptado de CHEN & GALLIE, 2004; BIEMELT et al., 1998 e MARTINEZ et al., 2001.

3. 4. 2 Superóxido Dismutase - SOD

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima inibir a fotorredução do NBT (GIANNOPOLITIS & RIES, 1977) em meio de reação composto por fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 μM, NBT 75 μM e riboflavina 2 μM. Em tubos foram adicionados o meio de reação mais 100 μl da amostra, e iluminados por 10 min com uma lâmpada fluorescente de 20 W. O controle consistiu do mesmo meio de reação onde a amostra foi substituída por água seguido de iluminação. O branco foi mantido no escuro por 10 min constituído de meio de reação, usado para zerar o espectrofotômetro.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 560 nm e o cálculo da atividade enzimática foi feito com a seguinte equação: % de inibição = $(A_{560}$ amostra com extrato enzimático – A_{560} controle sem enzima)/ $(A_{560}$ controle sem enzima). Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio.

3. 4. 3 Catalase - CAT

A CAT foi estimada pelo decréscimo na absorbância a 240 nm durante 3 min em um meio de reação contendo fosfato de potássio (200 mM pH 7,0) e H₂O₂ (12,5 mM), incubado a 28°C e a amostra, onde foi monitorado o consumo do peróxido de hidrogênio (HAVIR & MCHALE, 1987). A atividade da CAT foi determinada usando-se o coeficiente de extinção molar de 36 M⁻¹ cm⁻¹ (ANDERSON et al., 1995).

3. 4. 4 Ascorbato Peroxidase - APX

A atividade da APX foi realizada monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, segundo Nakano & Asada (1981). O meio de reação incubado a 28°C, foi composto de tampão fosfato de potássio (50 mM pH 7,0), ácido ascórbico (0,5 mM) e H₂O₂ (0,1 mM) e o extrato enzimático. O cálculo da atividade de APX foi feito com base no coeficiente de extinção molar de 2,8 mM⁻¹ cm⁻¹ para o AsA a 290 nm e expressa como µmol AsA g⁻¹ MF min⁻¹.

3. 4. 5 Peroxidação Lipídica

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Buege & Aust (1978) com algumas modificações. Trezentos miligramas de tecido foliar e radicular foram macerados e homogeneizados em TCA 0,1% (m/v), acrescido de 20% de PVPP (m/v) e o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 rpm, por 20 minutos.

Das alíquotas do sobrenadante foram adicionados 300 µl da amostra ao meio de reação contendo 0,5% (m/v) de TBA e 10% (m/v) de TCA), seguido de incubação em banho-maria a 90 °C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo por 10 minutos e as leituras foram determinadas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm.

O TBA forma complexos de cor avermelhada com aldeídos de baixa massa molecular, como o MDA, produto secundário do processo de peroxidação. A peroxidação foi expressa em nmol de MDA g⁻¹ de matéria fresca.

A concentração do complexo MDA/TBA foi calculada pela seguinte equação: [MDA] = $(A_{535} - A_{600})/(\xi.b)$

Em que: ξ (coeficiente de extinção = 1,56 x 10^{-5} cm⁻¹); b (comprimento ótico =1)

3. 4. 6 Peróxido de Hidrogênio

Trezentas miligramas de tecido foliar e radicular foram macerados e homogeneizados em 5 mL de TCA e centrifugado a 12.000 *g* por 20 min a 4°C.

A concentração de H_2O_2 foi determinado, medindo-se a absorbância a 390 nm em um meio de reação contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), 300 μ L do extrato e 1 mL de iodeto de potássio 1 M (VELIKOVA et al., 2000).

3.5 Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo a parcela composta por um vaso contendo uma planta. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização climática durante o período experimental

Na Figura 1, encontram-se os dados de temperatura média, máxima e mínima, ocorridas nos anos de 2010, 2011 e 2012, com destaque do período do experimento (20 de julho de 2011 a 9 de julho de 2012), sendo possível constatar que foram típicos para uma região de clima subtemperado úmido. Analisando o gráfico, percebe-se que as condições climáticas se repetem todos os anos no que se refere à temperatura, e as amplitudes térmicas são semelhantes.

4.2 Análise de Crescimento

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, houve diferença significativa entre as espécies estudadas (p<0,05) e entre os diferentes tempos de avaliação (p<0,05) para as variáveis massa seca das raízes, do caule, das folhas e massa seca total das plantas, porém não houve interação significativa entre estes fatores.

A avaliação da massa seca das raízes evidenciou um aumento linear na massa seca das duas espécies estudadas até a oitava avaliação (266 dias). Após este período o crescimento foi menor (Figura 2A), sendo que *E. saligna* foi significativamente maior que *E. grandis* (Figura 2B).

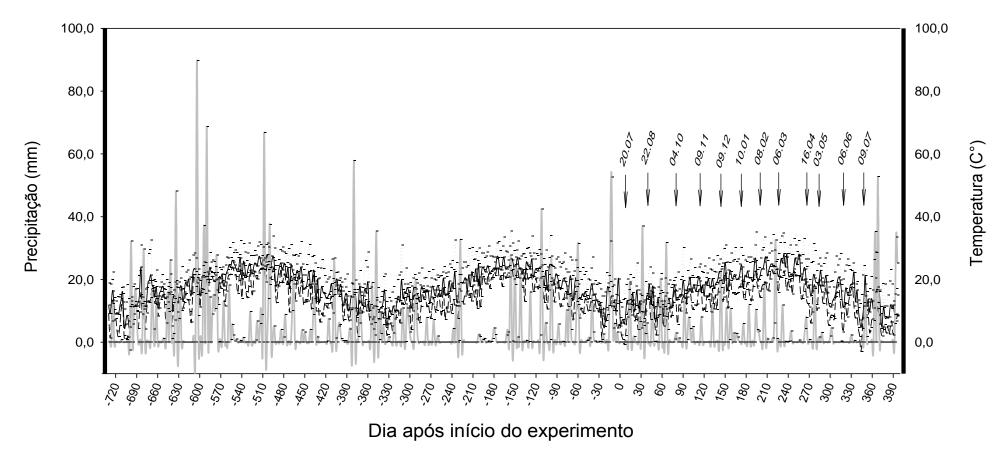


Figura 1: Dados climáticos dos anos de 2010, 2011 e 2012 na região de Pelotas, RS. Período experimental:julho/2011 a julho/2012. Temperatura média (─), temperatura máxima (^{······}), temperatura mínima (⁻-), (■) precipitação (mm). Fonte: Estação Agroclimatológica de Pelotas – Convênio EMBRAPA/UFPEL. As setas e os números indicados na parte superior do gráfico referem-se às datas das avaliações.

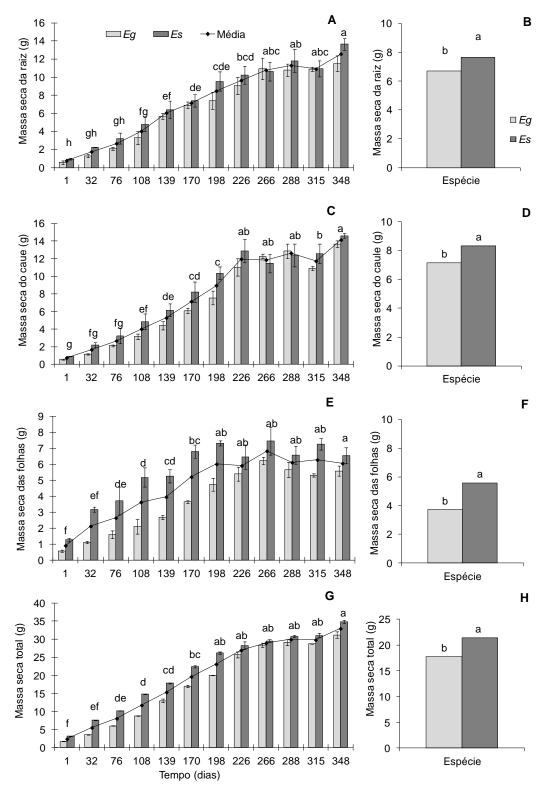


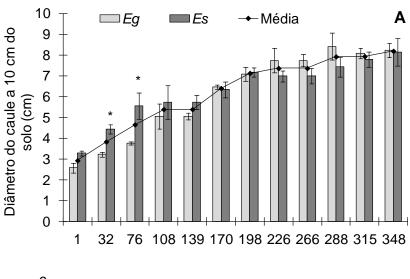
Figura 2: Massa seca (g) das raízes (A e B), do caule (C e D), das folhas (E e F) e total (G e H) de plantas de *E. saligna* (*Es*) e *E. grandis* (*Eg*) durante 12 meses. Letras minúsculas no gráfico referem-se às diferenças significativas pelo teste de Tukey (α =0,05) ao longo do tempo (A, C, E e G) e as diferenças entre as espécies (B, D, F e H). Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

A massa seca do caule de *E. saligna* também foi significativamente maior que *E. grandis* (Figura 2C e 2D). Houve um incremento na massa seca do caule até 226 dias de avaliação para *E. saligna*, enquanto que *E. grandis* continuou aumentando até o último período avaliado (348 dias) com exceção da 11ª avaliação (315 dias), onde a média da massa seca do caule foi menor (11,73g) em relação à anterior (12,63g).

Em relação à massa seca das folhas, houve um aumento linear em *E. grandis* até a oitava avaliação (266 dias), permanecendo praticamente inalterada nas coletas seguintes (Figura 2E e 2F). *E. saligna* triplicou a massa seca já na segunda avaliação (32 dias), continuando a aumentar até 198 dias após o início do experimento, também estabilizando-se após esse período. Os valores de massa seca das folhas de *E. saligna* foram significativamente maiores que em *E. grandis*.

A massa seca total das plantas aumentou significativamente até o final das avaliações para *E. grandis* e *E. saligna*, sendo sempre maior em *E. saligna* (Figura 2G e 2H).

Houve interação significativa (p<0,05) entre as espécies e os tempos de avaliação para a variável diâmetro do caule. Apesar das avaliações terem sido realizadas em idades iniciais, foi possível detectar diferenças significativas no incremento diamétrico das duas espécies (Figura 3A e 3B). O diâmetro do caule das duas espécies aumentou durante todo o experimento. *E. saligna* apresentou maior diâmetro a 10 cm do solo e na metade da altura da planta até a quinta avaliação (139 dias), sendo que essa diferença foi significativa apenas aos 76 dias de avaliação. Dos 198 aos 226 dias de avaliação, o diâmetro foi praticamente o mesmo para as duas espécies, e a partir dos 266 dias, o diâmetro de *E. grandis* apresentou valores discretamente superiores, apesar desta diferença não ter sido significativa.



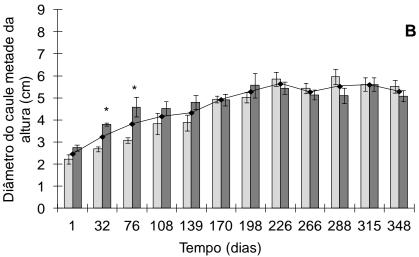


Figura 3: Diâmetro do caule (cm) a 10 cm do solo (A), e na metade da altura da planta (B) em plantas de *E. saligna* (*Es*) e *E. grandis* (*Eg*) durante 12 meses. O asterisco (*) refere-se à diferença significativa pelo teste de Tukey (α=0,05) entre as espécies no determinado tempo de avaliação. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

O incremento da altura representa o desenvolvimento das plantas ao longo do período estudado, e demonstra qual espécie teve maior taxa de assimilação. Com relação ao incremento na altura da planta, não houve diferença significativa (p<0,05) entre as duas espécies, nem interação entre espécie e tempo, mas, logicamente, houve diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes tempos avaliados.

E. saligna teve um crescimento linear contínuo até a avaliação de 266 dias. Após esta avaliação o crescimento estabilizou (Figura 4). Este período coincide com a diminuição da temperatura ambiente, ocorrida no mês de Abril de 2012, onde a média de temperatura diminuiu 5°C em relação à avaliação anterior. No caso

específico de *E. grandis*, também verifica-se uma estabilização no crescimento em altura, porém, ocorrida um pouco mais cedo, aos 198 dias.

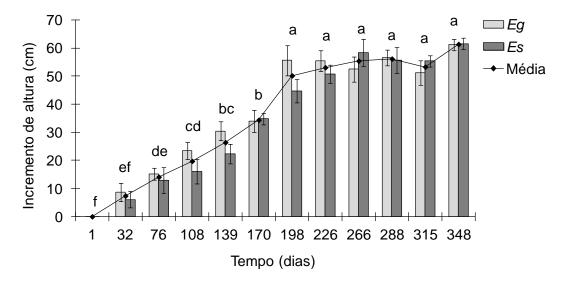


Figura 4: Incremento de altura (cm) de plantas de *E. saligna* (*Es*) e *E. grandis* (*Eg*) durante 12 meses. Letras minúsculas no gráfico referem-se às diferenças significativas pelo teste de Tukey (α=0,05) de incremento ao longo do tempo. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

Em relação ao número de folhas, não houve interação significativa (p<0,05) entre os fatores espécie e tempo de avaliação. Também não houve diferença entre as espécies e entre os tempos de avaliação isoladamente. Apesar de não significativo, verificou-se que houve pequeno aumento no número de folhas no primeiro mês de avaliação, permanecendo constante nos demais (Figura 5), mostrando que as plantas investiram assimilados no aumento do tamanho das folhas, como visualizado na massa seca das folhas (Figura 2) e na área foliar (Figura 5B).

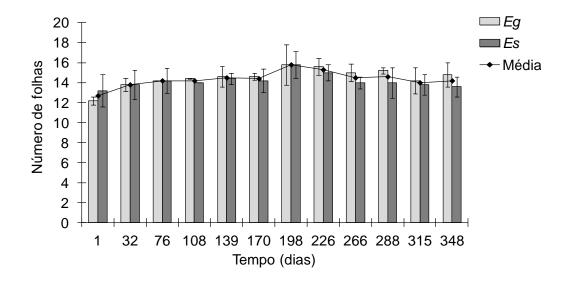


Figura 5: Número de folhas em plantas de *E. saligna (Es)* e *E. grandis (Eg)* durante 12 meses. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

Houve diferença significativa (p<0,05) entre as espécies em estudo e entre os tempos de avaliação para a variável área foliar. *E. saligna* teve maior área foliar que *E. grandis*, durante todas as avaliações (Figura 6). No início da avaliação, a área foliar de *E. saligna* e *E. grandis* era 146 cm² e 98 cm², chegando a 460 cm² e 445 cm², respectivamente, ao final dos 12 meses de avaliação.

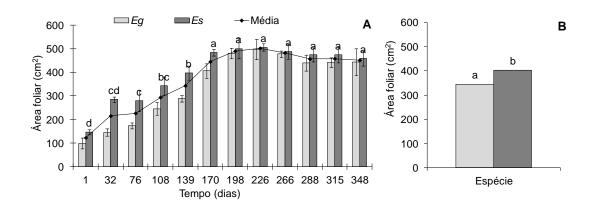


Figura 6: Área foliar (cm^2) em plantas em plantas de *E. saligna (Es)* e *E. grandis (Eg)* durante 12 meses. Letras minúsculas no gráfico referem-se às diferenças significativas, pelo teste de Tukey (α =0,05) ao longo do tempo (A) e às diferenças entre as espécies (B). Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

4. 3 Trocas gasosas

Em relação à taxa assimilatória líquida de CO_2 (A), concentração intracelular de CO_2 (C_i) e condutância estomática (gs), houve interação significativa entre os fatores espécies e tempo (p<0,05) (Tabela 1). Para a taxa transpiratória (E) houve diferença significativa entre os diferentes tempos avaliados.

Tabela 1: Taxa assimilatória líquida de CO_2 (A, μ mol $m^{-2}s^{-1}$), concentração intracelular de CO_2 (C_i , μ mol mol^{-1}) condutância estomática (gs, $mol m^{-2} s^{-1}$) e taxa transpiratória (E, $mmol m^{-2} s^{-1}$) em plantas de E. saligna (Es) e E. grandis (Eg) durante 12 meses. UFPel, 2012.

	DAIE*	Α		C _i		Gs		E**	
		E. g	E. s	E. g	E. s	E. g	E. s	E. g	E. s
	1	10.5cA	13.9cA	301.1aA	256.8cB	0,5aA	0,3bA	5.5b	4.3b
	32	6.9dB	16.4bA	296.8aA	271.9bB	0,3bA	0,4bA	2.6c	3.9c
	76	15.0bA	16.9bA	288.8aA	287.2aA	0,4aA	0,7aA	5.1b	7.7b
h	108	12.0cA	10.7dA	305.8aA	298.9aA	0,5aA	0,4bA	6.6b	5.9b
	139	18.6aA	19.5aA	272.7bA	281.5aA	0,5bB	0,6aA	5.8b	6.2b
	170	15.6bA	15.7bA	265.6bA	263.2cA	0,3bA	0,4bA	5.9b	5.8b
	198	18.8aA	18.1aA	266.2bA	277.8bA	0,5bB	0,6aA	8.2a	8.4a
	226	17.1aA	18.4aA	271.9bA	274.5bA	0,4bA	0,5bA	7.5a	7.9a
	266	13.9bA	13.4cA	293.4aA	289.4aA	0,5aA	0,6bA	6.3b	4.5b
	288	8.8dA	9.1dA	278.8bA	293.7aA	0,2bA	0,3bA	2.6c	2.7c
	315	12.1cA	10.2dA	269.8bA	282.3aA	0,3bA	0,2bA	2.1c	1.9c
₹ ♥	348	11.9cA	13.6cA	298.9aA	299.7aA	0,4bA	0,5bA	2.6c	3.3c

^{*}DIAE= dias após o início do experimento

Letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha representam diferença significativa ao pelo teste de Tukey (α=0,05).

A seta refere-se a períodos de altas temperaturas (cor cinza) e baixas temperaturas (cor branca).

No início do experimento, *A, gs e E* foram menores, especialmente em *E. grandis* (Tabela 1). De maneira geral, essas variáveis atingiram valores mais elevados entre 139 e 226 dias após o início do experimento, a partir do qual apresentaram uma nova redução. O início do experimento correspondeu ao período de frio, associado a uma precipitação mais intensa. Ao final do experimento não houve uma precipitação tão acentuada, porém a temperatura teve uma queda considerável, por corresponder a uma nova estação de inverno. As maiores médias para essas variáveis, em ambas espécies, acompanharam o período de aumento da temperatura e da radiação solar. Para a concentração intracelular de CO₂ (C_i) verificou-se diferença significativa entre as espécies somente até 32 DIAE, visto que em *E. grandis* os valores foram maiores.

Observa-se que, de maneira geral, plantas de eucalipto apresentam redução na atividade fotossintética em resposta a baixas temperaturas. Nas duas épocas em que as temperaturas foram menores, verificou-se que a redução da fotossíntese

^{**} diferença significativa em relação ao tempo

líquida em ambas as espécies estudadas esteve associada à redução da condutância estomática.

4. 4 Análises Bioquímicas

Neste estudo, a atividade da SOD, CAT e APX teve interação significativa entre as espécies estudadas e os diferentes tempos de avaliação, tanto nas folhas como nas raízes de eucalipto. Nas raízes e nas folhas, a atividade da SOD foi significativamente maior em *E. grandis* nas três primeiras avaliações (Figura 7A e 7B), realizadas nos meses de julho, agosto e setembro. Nas avaliações seguintes a atividade dessa enzima em *E. grandis* diminuiu, ficando semelhante à atividade em *E. saligna*. A atividade da SOD nas raízes foi muito maior que nas folhas.

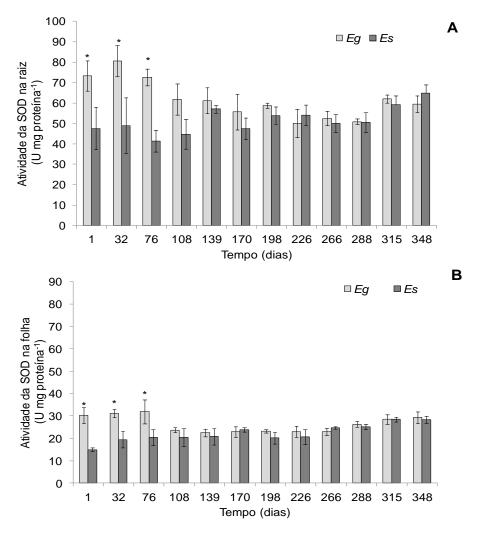


Figura 7: Atividade da Superóxido Dismutase em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. grandis* e *E. saligna* durante 12 meses. O asterisco (*) refere-se à diferença significativa pelo teste de Tukey (α=0,05) entre as espécies no determinado tempo de avaliação. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

A atividade da CAT nas raízes e nas folhas foi maior em *E. grandis* até os 76 dias de experimento (Figura 8A e 8B), não diferindo nas demais. Assim como na SOD, a atividade da CAT foi praticamente o dobro nas raízes quando comparada com as folhas.

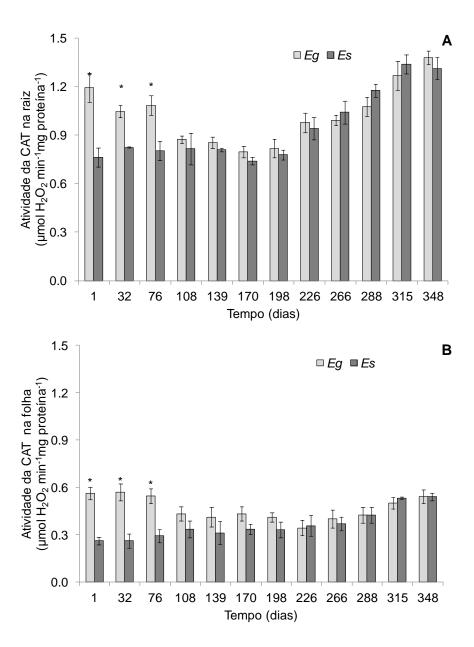


Figura 8: Atividade da Catalase em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. grandis* e *E. saligna* durante 12 meses. O asterisco (*) refere-se à diferença significativa pelo teste de Tukey (α =0,05) entre as espécies no determinado tempo de avaliação. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

Em relação à atividade da APX nas raízes, houve diferença significativa (p<0,05) entre as duas espécies nos primeiros três meses de avaliação (Figura 9A e 9B). Nas raízes, a atividade da SOD foi em torno de cinco vezes maior que nas folhas. Verificou-se que em *E. grandis*, a atividade das três enzimas antioxidantes analisadas foi alta no período em que as temperaturas foram muito baixas, diminuiu no período em que as temperaturas estavam mais altas e voltou a aumentar no segundo período frio. *E saligna* ativou o sistema antioxidante somente no segundo ciclo de temperaturas baixas.

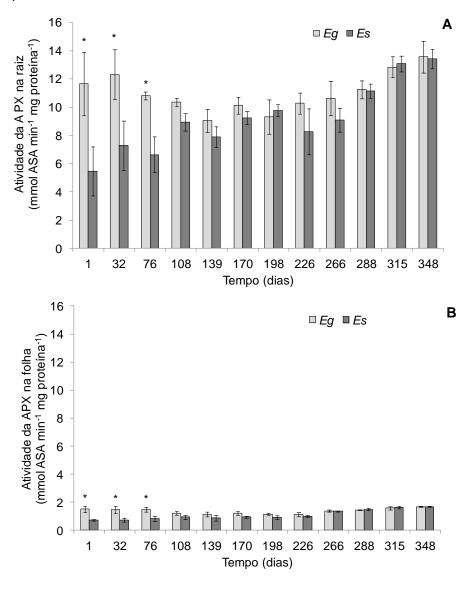


Figura 9: Atividade da ascorbato peroxidase em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. saligna* e *E. grandis* durante 12 meses. O asterisco (*) refere-se à diferença significativa pelo teste de Tukey (α=0,05) entre as espécies no determinado tempo de avaliação. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

Em relação à quantificação de peróxido de hidrogênio nas folhas e nas raízes de eucalipto, houve interação significativa (p<0,05) entre espécie e tempo. Nas raízes e nas folhas, houve diferença significativa (p<0,05) para a produção de H₂O₂ nas duas primeiras e nas quatro primeiras avaliações, respectivamente (Figura 10A e 10B), sendo sempre maior em *E. grandis*. Apesar de não ser significativo, houve um aumento na produção de peróxido de hidrogênio nos meses de fevereiro, março e abril, meses em que a temperatura média mensal ficou acima de 25°C.

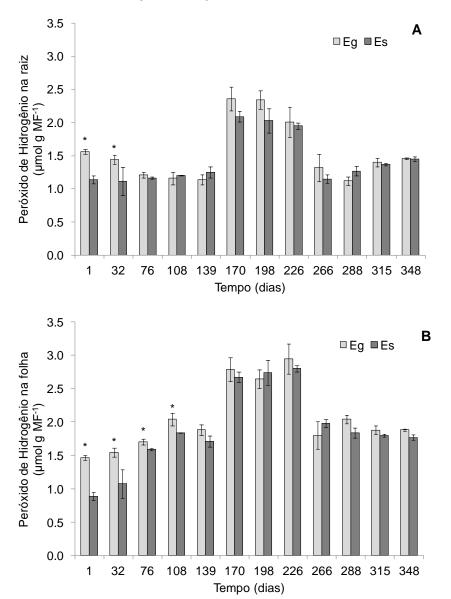


Figura 10: Peróxido de Hidrogênio em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. saligna* e *E. grandis* durante 12 meses. O asterisco (*) refere-se à diferença significativa pelo teste de Tukey (α =0,05) entre as espécies no determinado tempo de avaliação. Barras de erro referem-se ao erro padrão da média de três repetições.

Em relação à peroxidação lipídica, tanto nas folhas quanto nas raízes, houve diferença significativa (p<0,05) somente entre as espécies estudadas. Nas raízes, a peroxidação de lipídios foi maior em *E. grandis*, enquanto que nas folhas foi maior em *E. saligna* (Figura 11).

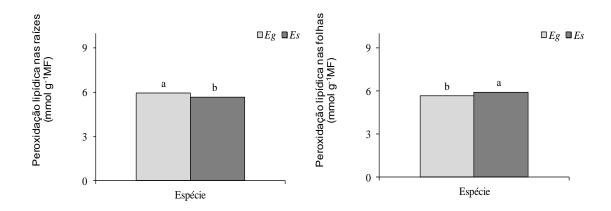


Figura 11: Peroxidação Lipídica em raízes (A) e folhas (B) de plantas de *E. grandis* e *E. saligna* durante 12 meses. Letras minúsculas no gráfico referem-se às diferenças significativas pelo teste de Tukey (α =0,05) entre as espécies.

5. Discussão

5. 1 Análise de Crescimento

Segundo Larcher (2006), o aumento da massa seca da planta ocorre quando o carbono que não é consumido pela respiração é utilizado para o crescimento ou reserva, estando correlacionada com a capacidade fotossintética, e isso foi observado nas duas espécies desse estudo. No início do experimento, as folhas foram as que mais colaboraram para o acúmulo de biomassa total em *E. saligna,* fato também observado por Chaves et al. (2001) e Tatagiba (2006), trabalhando com clones de eucalipto.

Em estudos realizados com diferentes genótipos de eucalipto, em diferentes regiões do Brasil, avaliando o efeito de características climáticas sobre a sua produtividade, foi observado que a produção de biomassa foi menor nas regiões com baixa disponibilidade de água (SOARES, 2007; SANTANA et al., 2008). Também Vellini et al. (2008), verificou que em clones de híbridos entre *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* apresentaram os maiores crescimentos relativos em área foliar. Esses clones foram capazes de usar a água de forma mais eficiente que os demais, permitindo o maior crescimento mesmo sob menor disponibilidade hídrica.

Chaves (2001) e Tatagiba (2007) não observaram diferença para diâmetro do caule, entre clones de eucalipto em crescimento inicial, destacando que essa não é a variável mais eficiente na identificação de materiais genéticos para reflorestamento. Porém, no campo, o comportamento da árvore se distingue, devido ao seu grande porte, à competição pelos recursos naturais como água, luz e nutrientes, e também por estar sujeita a condições adversas (LARCHER, 2006).

A altura da planta produz a modificação mais notória do crescimento, especialmente na idade juvenil em que é fácil observar a rapidez da modificação em altura em períodos curtos de tempo (ENCINAS et al., 2005). Neste trabalho, não foi encontrada diferença entre as espécies estudadas em relação ao incremento de altura, resultados semelhantes foram observados por Vieira (2011), onde as espécies *Eucalyptus urograndis* e *Acacia mearnsii* não diferiram significativamente em relação ao crescimento em altura. Além da espécie, outros fatores como sistema de plantio parece não causar alterações na altura. Mendonça (2008), usando

eucaliptos com 24 meses de idade em plantios puros e consorciados, observou que a altura não respondeu ao sistema de plantio.

Lopes (2009), em estudo sobre o crescimento e desenvolvimento de clones de eucalipto em áreas sob diferentes condições climáticas, em duas épocas do ano, observaram que as folhas no início do experimento foram as que mais colaboraram para o acúmulo de biomassa em quase todos os clones avaliados. Resultados semelhantes foram encontrados por Chaves (2001) e Tatagiba (2007), que verificaram que no início dos experimentos realizados o compartimento folha foi o que mais contribuiu para o acúmulo de matéria seca total. Silva et al. (2004), trabalhando com eucalipto, verificaram que, aos 12 meses de idade, o compartimento folha apresentou maior percentual de biomassa, e a partir dos 24 meses, o compartimento que obteve maior acúmulo de biomassa foi o lenho.

As folhas são os principais órgãos fotossintetizantes, denominadas fonte a partir do seu primeiro terço de expansão total. É também o órgão que possui uma maior plasticidade frente às flutuações ambientais (HUANG et al., 2011) pois, além de sofrer influencia direta da radiação solar, ventos, e temperatura, sofre influência indireta em função de estresses hídrico, iônico e nutricional percebidos pela raiz (WALTER, 2009).

Algumas espécies apresentam maior taxa de crescimento, por absorverem maior quantidade de nutrientes para atender à sua demanda nutricional, o que, em última análise, permite expressar o potencial de produção de biomassa na fase inicial de crescimento (SILVA et al., 1997). Segundo Souza et al. (2006), a produtividade de madeira de clones de eucalipto, crescendo em três regiões localizadas na Bacia do Rio Doce - MG, foi influenciada pela precipitação total durante a estação chuvosa. Os maiores valores de incremento periódico mensal foram observados nos anos antecedidos de estação chuvosa, e os menores valores foram observados nos anos precedidos de estações secas ou muito secas.

Trabalhos realizados por Whitehead & Breadle (2004) e Martins (2008) mostraram que em condições normais de irrigação *E. saligna* apresentou maior área foliar quando comparado ao *E. grandis*, relacionando ao fato de que o *E. saligna* teve maior transpiração e consumiu mais água diariamente que o *E. grandis*.

5. 2 Trocas gasosas

O início do experimento correspondeu ao período de frio, associado a uma precipitação mais intensa. A ocorrência de alta pluviosidade acarreta a diminuição da insolação diária, devido à nebulosidade característica de períodos chuvosos, e nessas condições, a radiação que chega a copa das plantas é, em sua maioria, difusa (LARCHER, 2006). Além disso, baixas temperaturas podem inibir a taxas de fotossíntese por limitar a atividade das enzimas do ciclo de Calvin (COSTA & SILVA, 2008).

O aquecimento da folha, em decorrência da forte radiação, também eleva as taxas transpiratórias, pois aumenta a diferença de pressão de vapor entre o ar e a folha, provocando transpiração mesmo com o ar saturado (SILVA JUNIOR, 2007; SCHOCK, 2012).

Segundo Oliveira et al. (2008) as folhas danificadas por resfriamento apresentam inibição da fotossíntese, taxas respiratórias baixas, lenta translocação de carboidratos e inibição da síntese de proteínas existentes. As maiores médias para taxa assimilatória líquida de CO₂ em ambas os genótipos acompanhou o período de aumento da radiação solar ao longo do experimento.

A fotossíntese varia amplamente entre as espécies e entre os locais onde as plantas se encontram. Num mesmo indivíduo pode ocorrer variação entre folhas de sol e folhas de sombra, durante o curso do dia e durante as estações do ano. Essas variações são resultado da interação de vários fatores, como idade da folha, formação do dossel, condutância estomática e os fatores ambientais, como intensidade de luz e temperatura, entre outros (KOZLOWSKI et al., 1991).

O fechamento estomático reduz a concentração de dióxido de carbono no espaço intracelular, enquanto a deterioração dos cloroplastos aumenta (SONOIKE, 1998; OLIVEIRA, 2008). A partir do 270° dias após início do experimento começou uma diminuição de temperatura até o final do estudo, ocorrendo a maior queda de gs. Resultados semelhantes foram encontrados por Costa e Silva (2009), onde observaram que a condutância estomática diminuiu significativamente em ambos os clones de *Eucalytus globulus* e em todos os tratamentos, quando as temperaturas atingiram 2°C.

Entender as influências do ambiente sobre a condutância estomática tem sido

foco central das pesquisas fisiológicas de plantas, devido à relação entre *gs* e aquisição de carbono e, portanto, crescimento da planta (MARRICHI, 2009). A condutância estomática é controlada pela turgidez das células-guarda, que regulam a abertura ou fechamento dos estômatos (RODRIGUES et al., 2011), sendo a intensidade luminosa um dos principais fatores responsáveis por este processo (COSTA e MARENCO, 2007).

Lima et al. (2003) verificaram diferentes respostas estomáticas entre espécies de *Eucalyptus* em função da disponibilidade hídrica e outras condições ambientais. Contudo, há referências de que, sob estresse leve, um ligeiro declínio na condutância estomática pode ter efeito protetor, permitindo a planta melhorar a eficiência do uso da água (CHAVES et al., 2009).

Maiores radiações elevam a temperatura das folhas aumentando a diferença de pressão de vapor entre o ar e a folha, elevando a taxa transpiratória (HOPKINS, 1995; LUTTGE, 1997), confirmando os resultados para o aumento das médias que foram encontradas para as duas espécies em relação à taxa transpiratória nos intervalos de alta temperatura e luminosidade. Já nas pesquisas conduzidas por Tatagiba et al. (2008), maiores valores de fotossíntese e condutância estomática foram encontrados na época chuvosa para dois clones de *Eucalyptus*.

Ferreira et al., (1999) observaram em seu estudo que as mudas de *E. citriodora* promoveram o fechamento rápido dos estômatos em condições de déficit de pressão de vapor atmosférico e radiação. Almeida et al., (2003) salienta que o eucalipto exerce controle estomático eficiente sobre a transpiração durante a estação seca. Entretanto a falta de um controle significativo da condutância estomática foi observada para seringueira, um dos fatores que ajudaria a justificar a queda acentuada de sua produção no período seco (CONFORTO et al., 2005). Inoue & Ribeiro (1988), estudando clones de *E. grandis* e *E. saligna*, demonstraram que clones que apresentaram alto potencial fotossintético foram também os que alcançaram as maiores taxas de transpiração.

A transpiração é de grande importância, pois impede que as folhas sofram superaquecimento pela incidência direta da radiação solar. Como a energia do sol é necessária para realização da fotossíntese, a planta deve expor o máximo de sua superfície ao sol, criando ao mesmo tempo uma grande superfície de transpiração (LA VEGA, 2003).

Segundo Marenco e Lopes (2007), mesmo havendo água disponível no solo, em dias quentes de radiação solar intensa, a quantidade de água transpirada nas folhas é superior à quantidade absorvida pelas raízes e transportada pelo xilema, causando assim um estresse hídrico temporário. Com o estresse os estômatos tendem a se fechar, reduzindo a entrada de CO₂ na folha e a fotossíntese.

Os fatores ambientais normalmente não exercem de forma isolada suas influências numa floresta. A fotossíntese responde diferentemente quando sob influência de vários fatores ou apenas um fator ambiental, como por exemplo, as respostas a alterações desencadeadas por um conjunto de fatores climáticos. Portanto, os resultados de um estudo no campo, quando comparado a um trabalho realizado em laboratório, tem chances de explicar com maior eficácia a realidade da influência desses fatores no que diz respeito às trocas gasosas do vegetal (CHAVES et al.,2002).

O eucalipto apresenta altas taxas de crescimento, e portanto, altos valores de transpiração, ou seja, há um aumento na taxa de consumo de água, mas em contrapartida, apresenta altos valores de eficiência do uso da água. Por isso a importância de pesquisas no campo com eucalipto sob diferentes regimes hídricos, visando o melhor entendimento deste processo (PEREIRA et al., 2006).

Em trabalho realizado por Whitehead & Breadle (2004), os pesquisadores observaram que *E. saligna* teve maior transpiração e consumiu mais água diariamente que *E. grandis* nas plantas irrigadas, em ambas épocas de semeadura (outubro e maio), por apresentar maior área foliar. Nas plantas mantidas sob déficit hídrico semeadas no mês de maio, o *E. saligna* teve uma transpiração e consumo de água menor que *E. grandis*. Essa redução na transpiração e no consumo de água nas plantas com déficit hídrico ocorreu devido à redução na área foliar de ambas espécies, e essa redução foi maior no *E. grandis*. Porém, no *E. saligna* houve maior redução na transpiração e no consumo de água, devido ao fato dessa espécie possuir maior controle na abertura e fechamento estomático (SILVA et al., 2004).

Em trabalho realizado por Carneiro et al. (2008), com híbridos de *E. urograndis* sob regimes irrigados e não irrigados, verificando o efeito da variação sazonal das variáveis ambientais, foi observado que quando as condições ambientais foram iguais, a umidade do solo foi o fator predominante no controle da condutância estomática. Além disso, a condutância estomática de plantios jovens apresentou variação sazonal entre o período úmido e o período seco.

5. 3 Análises Bioquímicas

As enzimas antioxidantes contribuem nas respostas de plantas ao estresse biótico e abiótico, nas quais estão envolvidos para aumentar a sobrevivência de uma planta durante o crescimento inicial frente às mudanças ambientais. A dosagem de suas atividades proporcionam melhor entendimento sobre os mecanismos de proteção. Entre as várias enzimas antioxidantes envolvidas na eliminação de EROs, a SOD pode ser considerada uma enzima chave, sendo, geralmente, a primeira linha de defesa ao estresse oxidativo (WILLEKENS et al., 1995; ASADA, 1999).

Pode-se visualizar na figura 1, que o início do experimento foi no inverno, em que as temperaturas nessa região são geralmente muito baixas. No ano das avaliações, o inverno teve temperaturas que variaram desde -0,8 °C a 25 °C, ficando em média 11°C, 12°C e 14°C nos meses de julho, agosto e setembro, respectivamente. O que chama a atenção é que alguns dias antes das primeiras duas avaliações a temperatura mínima chegou próximo a zero grau, e isto pode ter contribuído para que o sistema antioxidante das plantas fosse ativado, em defesa ao estresse por frio, para evitar danos às membranas e às demais estruturas celulares. A maior capacidade de tolerância a estresses abióticos pode estar ligada à capacidade de controlar o estresse oxidativo e, por isso, os seus danos ao nível celular (FORTUNATO et al., 2010). De fato, a maioria dos estresses abióticos, incluindo o frio e a seca, induzem distúrbios no balanço metabólico das células, resultando num aumento da produção de EROs (MILLER et al., 2008).

E. saligna sobrevive em regiões mais frias, com temperatura mínima chegando a -7 °C (SKOMEN, 2006), enquanto que E. grandis é encontrado em lugares com temperatura mínima média dos meses mais frios de 2 a 10 °C e temperatura máxima média dos meses mais quentes de 29 °C (MESKIMEN e FRANCIS, 2006). Cinco dias de geadas na primeira quinzena de julho de 2010 resultaram em grandes danos em plantios de E. grandis, no município de Santa Maria, RS (CARON et al., 2011).

Em estudo realizado por Bulbovas (2005) com *Caesalpinia echinata* Lam frente a variações sazonais, a SOD foi a enzima antioxidante mais sensível às mudanças ambientais, sendo que sua atividade oscilou menos ao longo do tempo, apresentando maior atividade nos meses de abril a julho, coincidindo com os resultados encontrados nesse estudo, onde a SOD tanto nas raízes como nas

folhas, depois dos primeiros meses de estudo tornou-se constante entre ambas as espécies.

Zhou & Zhao (2004) verificaram que gramíneas forrageiras que crescem em regiões montanhosas e frias podem produzir grande quantidade de antioxidantes e assim tolerarem um período de condições climáticas extremas. O sistema antioxidante do *E. grandis* foi ativado mais rapidamente que o de *E. saligna*, e isso pode ser visualizado nos gráficos, onde a atividade das enzimas SOD, CAT e APX foi maior em *E. grandis* já na primeira avaliação, enquanto que *E. saligna*, de maneira geral, ativou mais intensamente o sistema antioxidante a partir do quarto mês de avaliação. Em ambas espécies, no segundo período frio (avaliações aos 315 e 349 dias), o sistema antioxidante foi ativado de maneira semelhante, mostrando que as plantas já estavam adaptadas às condições climáticas do local.

A SOD é encontrada em vários compartimentos celulares e cataliza o desproporcionamento de dois radicais O²⁻ para H₂O₂ e O₂ (SINHA, 2006; ADAMSKI, 2011), evitando os danos causados pela oxidação descontrolada durante o crescimento inicial em espécies de *E. grandis* suscetíveis a determinadas condições climáticas impostas pelo estado do Rio Grande do Sul.

O aumento na atividade das enzimas do sistema antioxidante mostra que o estresse leva à produção de radicais livres ou espécies reativas de O₂ com a subsequente remoção pelo sistema de enzimas antioxidantes (ALVES et al., 2012). A capacidade de manutenção, em níveis elevados, da atividade da SOD, da CAT e da APX, sob condições de estresse ambiental, é essencial para a manutenção do equilíbrio entre a formação e a remoção do H₂O₂ do ambiente intracelular (ZHANG & KIRKHAM, 1996; MATÉS, 2000).

Costa e Silva et al., (2009) verificaram que a aclimatação a baixas temperaturas levou a respostas similares de clones de *E. globulus* com aumentos significativos na APX e SOD, em comparação com as plantas controle. Assim, a ação combinada destas três enzimas parece ter um papel de proteção contra espécies reativas de oxigênio induzidas pelo frio. Exposição ao frio mostrou um aumento significativo na atividade de APX apenas no clone CN5 que pode, consequentemente, resultar em capacidades antioxidantes diferentes entre os dois clones estudados ou, pelo menos, sugere vias de resistência diferentes em cada clone quando não aclimatados.

Caverzan (2012) observou que em tubérculos de batata ocorreu maior acúmulo transitório de mRNA da APX após armazenamento a baixa temperatura do que o armazenamento a alta temperatura, mostrando que a expressão de APX foi induzida em resposta à baixa temperatura. Da mesma forma, os dois genes do arroz cAPX (OsAPX1 e OsAPX2) foram induzidas depois de as plantas de arroz serem expostos a baixas temperaturas. A superexpressão da APX no cloroplasto desempenhou um papel significativo na desintoxicação do H₂O₂ a para minimizar os danos fotooxidativos durante o estresse por temperatura (CAVERZAN et al.,2012).

Da mesma maneira, Sato et al. (2011) mostraram que plantas de arroz transgênico com superexpressão de um gene citosólico APX1 (OsAPXa) exibiu maior atividade de APX que em plantas tipo selvagem sob estresse por frio, resultando em maior tolerância ao frio na fase de inicialização. A expressão de genes codificadores APX é diferencialmente modulada por vários estresses abióticos em diferentes espécies.

Em relação ao peróxido de hidrogênio, os resultados corroboram com a atividade da SOD (Figura 10), que produz H₂O₂, e enzimas antioxidantes responsáveis pela quebra do H₂O₂ em água e O₂, como a CAT (Figura 11) e a APX (Figura 12). Os resultados desta pesquisa são suportados por trabalhos semelhantes encontrados em estudos ligados a estresse por alagamento (ALVES et al., 2012; ZANANDREA, 2009; LARRÉ, 2011), déficit hídrico (DEUNER et al., 2011; CARNEIRO, 2011), salinidade (MAIA, 2012), frio (CERQUEIRA, 2011), calor (PANCHUK, 2002), entre outros.

Apesar de não diferir significativamente, verificou-se um aumento na produção de H_2O_2 nas avaliações aos 170, 198 e 226 dias após o início do experimento, tanto nas raízes quanto nas folhas de ambas espécies estudadas. Esse aumento ocorreu nos meses de janeiro, fevereiro e março, onde a temperatura chegou a 35°C, 34°C e 33°C, respectivamente, um dia antes da avaliação.

Os resultados obtidos neste trabalho podem ser devido ao fato de o eucalipto ser uma planta com metabolismo C3, sugerindo um aumento no ciclo fotorrespiratório com o aumento da temperatura e da luminosidade, atuando como dreno alternativo do poder redutor gerado pelas reações fotoquímicas. Em plantas C3 a fotorrespiração pode ser uma alternativa para ajudar a consumir parte considerável do fluxo de elétrons quando a disponibilidade de CO₂ nos cloroplastos está limitada (HEBER et al.,1996; CARNEIRO, 2011).

Segundo Scandalios (2002), Baptista (2009), Pereira (2012) e Pires (2012) as principais consequências do stresse oxidativo são a peroxidação dos lipídios da membrana, oxidação proteica, inibição enzimática e danos ao nível do DNA e RNA, provocando senescência, mau funcionamento da fotossíntese e necrose das folhas.

Os ácidos graxos poliinsaturados presentes na membrana são altamente sensíveis ao ataque do radical hidroxila (OH⁻). Logo, a peroxidação lipídica mediada, pela ação de radicais livres, pode ser utilizada como indicador da prevalência do estresse oxidativo (KAPPUS, 1985; LARRÉ, 2011). Neste estudo, a eficiente atuação das enzimas antioxidantes nas raízes e nas folhas evitou o aumento dos níveis de H₂O₂.

O aumento do teor de malondialdeído (MDA) é resultado do aumento da peroxidação dos lipídios efeito que também é provocado por stresse oxidativo (GALLEGO et al., 1996; DIXIT et al., 2001; SANDALIO et al., 2001; BAPTISTA, 2009).

Foi observado em vários estudos sobre estresse por salinidade o aumento da atividade de enzimas como SOD, APX e CAT está associado com a manutenção dos níveis de peroxidação de lipídios em raízes de arroz (LIN & KAO 2001), tomate (MITTOVA et al., 2004), milho (AZEVEDO-NETO et al., 2006) e feijão caupi (CAVALCANTI et al., 2007).

Aumento dos teores de peroxidação de lipídios foi relatado em plantas submetidas a estresse hídrico severo (BAISAK et al., 1994), altas temperaturas (BECANA ET al., 2000), radiação UV-B (MALANGA & PUNTARULO, 1995) e toxidez por cádmio, zinco (SHAH et al., 2001) arsênio e chumbo (PIRES, 2012). Em plantas sensíveis ao frio como a cana de açúcar (Saccharum officinarum), o estresse causado pelas baixas temperaturas, ocasiona um aumento de ROS. Nas membranas celulares, ROS podem promover peroxidação lipídica e frequentemente a ativação do programa de morte celular programada (VALENTE et al., 2012).

Em estudos realizados por Lu e colaboradores (2007) observaram peroxidação lipídica devido ao estresse por frio. Estes autores, determinaram o nível de peroxidação lipídica em células de folhas da erva crofton (*Eupatorium adenophorum*) submetidas ao estresse pelo frio de 5°C por 4 dias e observaram um aumento de ~15% nos níveis de TBARS, em comparação as células controle (25°). Também demonstraram um aumento na atividade da catalase de ~17% nas condições de estresse pelo frio 5°C por 4 dias em relação ao controle. Para a APX

estresse pelo frio de 5°C por 4 dias promoveu aumento de ~31% na atividade da APX. Os autores concluíram que o aumento coordenado das enzimas antioxidantes foi eficaz para proteger a erva crofton (*E. adenophorum*) do acúmulo de ROS a baixas temperaturas.

Valente (2012), através de experimentos em mitocôndrias isoladas de células embriogênicas de *Araucaria angustifolia*, submetidas ou não ao estresse pelo frio (4°C por 24 h e 48 h), observou aumento da atividade da CAT no tempo testado de 24h. Por outro lado, o estresse pelo frio de 48 h causou um aumento de ~24% na produção de TBARS no tempo de 20 minutos. O TBARS é usado como indicador de peroxidação lipídica.

Os resultados da produção de EROs e peroxidação de lipídios sugerem que as condições de estresse foram capazes de induzir um aumento na produção de EROs ou que, mesmo havendo este aumento, os sistemas antioxidantes destas células foram provavelmente eficientes a ponto de neutralizar estas espécies.

6. Conclusões

Com base nos resultados obtidos em duas espécies de *eucalyptus* durante 12 meses de experimento pode-se concluir que:

- Plantas de *E. grandis* e *E. saligna* apresentaram respostas semelhantes frente às condições climáticas da região estudada, pela análise de crescimento.
- Plantas de eucalipto apresentam redução na atividade fotossintética em resposta a baixas temperaturas. Com temperaturas baixas, a redução da fotossíntese líquida em ambas as espécies esteve associada à redução da condutância estomática.
- As pesquisas de crescimento inicial confirmam sua adaptabilidade às condições climáticas do Rio Grande do Sul. As causas dessa adaptabilidade são: fotossíntese ativa, acúmulo e utilização de carboidratos tanto na parte aérea quanto no sistema radicular, manutenção do crescimento vegetativo durante todo o período de estudo e ativação do sistema antioxidante.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AASAMAA, K.; SÕBER, A. Stomatal sensitivities to changes in leaf water potential, air humidity, CO₂ concentration and light intensity, and the effect of abscisic acid on the sensitivities in six temperate deciduous tree species. **Environmental and Experimental Botany**,v.71, p.72–78, 2011.

ABRAF. Associação Brasileira de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico ABRAF 2006** (ANO BASE 2005). Disponível em: http://www.ipef.br/estatisticas/relatorios/anuario-ABRAF-2006.pdf.

ABRAF. Associação Brasileira de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico ABRAF 2009** (ANO BASE 2008). Disponível em: http://www.ipef.br/estatisticas/relatorios/anuario-ABRAF-2008.pdf.

ABRAF. Associação Brasileira de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico ABRAF 2010** (ANO BASE 2009). Disponível em: http://www.abraflor.org.br.

ABRAF. Associação Brasileira de Florestas Plantadas. **Anuário Estatístico ABRAF 2012** (ANO BASE 2011). Disponível em: http://www.ipef.br/estatisticas/relatorios/anuario-ABRAF-2011.pdf.

ADAMSKI, J. M. Respostas morfofisiológicas de *Ipomea batatas* L. em função da concentração de ferro. **Dissertação** (Mestre em Ciências), UFPel, Pelotas –RS, 2011.

ALMEIDA, A. C.; SOARES, J. V. Comparação entre uso de água em plantações de *Eucalyptus grandis* e floresta ombrófila densa (Mata Atlântica) na costa leste do Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, p. 159-170, 2003.

ALVES, J. D.; ZANANDREA, I.; DEUNER, S.; GOULART, P. F. P.; SOUZA, K. R. D.; SANTOS, M. S. Antioxidative responses and morpho-anatomical adaptations to waterlogging in *Sesbania virgata*. **Trees**, 2012.

ANDRADE, A. C.; FONSECA, D. M.; LOPES, R. S.; NASCIMENTO JÚNIOR, D.; CECON, P. R.; QUEIROZ, D. S.; PEREIRA, D. H.; REIS, S. T. Características morfogênicas do capim-elefante "Napier" adubado e irrigado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 150-159, 2005.

ASADA, K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 601-639, 1999.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 373-399, 2004.

- AZEVEDO-NETO, A. D. D.; PRISCO, J. T.; ENEAS-FILHO, J.; ABREU, C. E. B.; GOMES- FILHO, E. Eff ect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. **Environmental and Experimental Botany**. 56: 87-94, 2006.
- BAESSO, R. C. E. Efeito do CO₂ na eficiência quântica do eucalipto e sua utilização na modelagem de seu crescimento pelo 3-PG. **Tese** (*Doctor Scientiae*), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2011.
- BAISAK, R. Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. **Plant and Cell Physiology**, v.35, p.489-495, 1994.
- BALDOCHI, D. D.; LUXMOORE, R. J.; HATFIELD, J. L. Discerning the Forest from the trees: an essay on scaling canopy stomatal conductance. **Agricultural and Forest Meteorology**, Amsterdam, v.54, p.197-226, 1991.
- BAPTISTA, S. M. P. Avaliação da resposta ao stresse oxidativo induzido por cádmio e cobre em plantas de tabaco tranformadas e não transformadas. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente). Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.
- BARTON, C. V. M.; DUUSRSMA, R. A.; MEDLYN, B. E.; ELLSWORTH, D. S.; EAMUS, D.; TISSUE, D. T.; ADAMS, M. A.; CONROY, J.; CROUS, K. Y.; LIBERLOO, M.; LÖW, M.; LINDER.; McMURTRIE, R. E. Effects of elevated atmospheric [CO₂] on instantaneous transpiration efficiency at leaf and canopy scales in *Eucalyptus saligna*. **Global Change Biology**,18, 585–595, 2012.
- BATTAGLIA, M.; BEADLE, C.; LOUGHHEAD, S. Photosynthetic temperature responses os *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*. **Tree Physiology**, v.16, p.81-89, 1996.
- BRAMORSKI, A. *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng) Meisn. (Ericaceae): Caracterização química e atividade biológica do fruto *In Vitro* e *In Vivo*. **Tese** (Doutor em Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina -SC, 2011.
- BECANA, M. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. **Physiologia Plantarum**, v.109, p.372-381, 2000.
- BEN, CH. A.; ROUINA, B.; SENSOY, S.; BOUKHRIS, M.; BEN ABDALLAH F. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidativeenzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. **Environmental and Experimental Botany**, v.67, p. 345–352. 2009.
- BIANCHI, C. A. M.; BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; HECKLER, B. M. M.; COMIRAN, F. Condutância da folha em milho cultivado em plantio direito e convencional em diferentes disponibilidades hídricas. **Ciência Rural**, v.37, n.2, mar-abr, 2007.

- BIEMELT, S. KEETMAN, U. ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 116, n. 2, p. 651-658, Feb. 1998.
- 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.
- BULBOVAS, P. RINALDI, M. C. S.; DELITTI, W. B. C.; DOMINGOS, M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Revista Brasil**. Bot. v. 28, n.4, p. 687-696, 2005.
- BRUNINI, O.; CARDOSO, M. Efeito do déficit hídrico do solo sobre o comportamento estomático e potencial da água em mudas de seringueira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.7, p.1053-1060, 1998.
- CAKMAK, I.; STRBAC, D.; MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germination wheat seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 44, n. 260, p. 127-132, 1993.
- CALDER. I. R. Water use of eucalyptus a review. In: CALDER, I.R., HAAL,R.L.; ADLARD, P.G (Ed.). **Growth and water use of forest plantations**. Chichester: John Wiley & Sons, p.167-179.p.381, 1992.
- CARBONARI, C. A.; VELINI, E. D.; GOMES, G. L. G. C.; TAKAHASHI, E. N.; ARALDI, R. Seletividade e absorção radicular do sulfentrazone em clones de eucalipto. **Planta Daninha**, Viçosa –Mg, v. 30, n. 1, p. 147-153, 2012.
- CARON, B. O.; SOUZA, V. Q.; BEHLING, E. E. A.; SCHMIDT, D.; TREVISAN, R. Resistência inicial de quatro espécies arbóreas em diferentes espaçamentos após ocorrência de geada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 817-822, 2011.
- CARNEIRO, R. L. C.; RIBEIRO, A.; HUAMAN, C. A. M.; LEITE, F. P.; SEDIYAMA, G. C.; NEVES, J. C. L. Consumo de água em plantios de eucalipto: Parte 2 Modelagem da resistência estomática e estimativa da transpiração em tratamentos irrigados e não-irrigados. **Revista Árvore**, Viçosa, v.32, n.1, p.11-18, 2008.
- CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; CAMILA PINHO SOUSA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, nº 4 p. 752 761, 2011.
- CAVERZAN, A. Caracterização funcional de genes de ascorbato peroxidase de arroz (*Oryza sativa* L.) nas interações entre estresse oxidativo e estresse abióticos. **Dissertação** (Título de Mestre), UFRGS, Porto Alegre—RS, 2008.
- CAVERZAN, A.; PASSAIA, G.; ROSA, S. B.; RIBEIRO, C. W.; FERNANDA LAZZAROTTO, F.; PINHEIRO, M. M. **Genetics and Molecular Biology**, 35, 4 (suppl), 1011-1019, 2012.

- CAVALCANTI, F. R.; LIMA, J. P. M. S.; FERREIRA-SILVA, S. L.; VIEGAS, R. A.; SILVEIRA, J. A. G. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. **Journal of Plant Physiology**, 164: 591-600, 2007.
- CERQUEIRA, R. C. Influência do frio e do défice hídrico nas características fisiológicas e bioquímicas em videiras (*Vitis vinifera* L.) cv. Thompson Seedless. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, São Paulo, 2011.
- CORDEIRO, Y. E. M. Potencial de uso em recuperação de áreas degradadas: um estudo de três espécies nativas da Amazônia oriental sob dois regimes hídricos. Doutorando do Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias Instituto de Ciências Agrárias Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2012.
- CORNIANI, N. Relação entre estresse de radiação ultravioleta-B e óxido nítrico em plantas de eucalipto. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Faculdade de Ciências Agronômicas, Unesp, 2009.
- COSTA, Avaliação do Potencial Mutagênico, Antimutagênico e Antioxidante do Óleo da Polpa de *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Dissertação** (Biotecnologia Aplicada à saúde), Universidade Católica Dom Bosco. Campo Grande Mato Grosso do Sul, 2012.
- COSTA E SILVA, F.; SHVALEVA, A.; BROETTO, F.; ORTUNO, M. F.; RODRIGUES, M. L.; ALMEIDA, M. H.; CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S. Acclimation to short-term low temperatures in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought resistance. **Tree Physiology**, v. 29, 2009.
- COSTA G. F.; MARENCO R. A., Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (Carapa guianensis). **Acta Amazonica**, v. 37 p.229 234, 2007.
- COSTA e SILVA, F. M. C. Diferenças na resposta a défices hídricos e a baixas temperaturas em dois clones de *Eucalyptus globulus* Labill. com contrastante sensibilidade à secura. Tese (Doutoramento em Engenharia Florestal) Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2008.
- CONFORTO, E. C.; CAVALCANTE, J. R.; PESSOA, J. D. C.; MORENO, R. M. B.; MATTOSO, L. H. C. Variação sazonal das trocas gasosas, turgescência relativa do tronco e produtividade em dois cultivares de seringueira em Votuporanga, SP, Brasil. **Acta bot Bras**. 19(4): 733-740, 2005.
- CHAVES, M. M.; PEREIRA, J. S.; MAROCO, J. P.; RODRIGUES, M. L.; RICARDO, C. P. P.; OSORIO, M. L.; CARVALHO, I.; FARIA, T.; PINHEIRO, C. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. **Ann. Botany**, 89: 907-916, 2002.
- CHAVES, M. M. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, London, v.103, p.551-560, 2009.

- CHAVES, J. H. Crescimento, fotossíntese e relações hídricas de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, f. 106, 2001.
- CHEN, Z.; GALLIE, D. R. The ascorbic acid redoxstate controls gerard cell signaling and stomatal movement. **The Plant Cell**, v.16, p.1143-1162, 2004.
- DAMATTA, F. M.; CHAVES, A. R. M.; PINHEIRO, H. A.; DUCATTI, C. & LOUREIRO, M. E. Drought tolerance of two field-grown clones of Coffea canephora. **Plant Science**, v.164, p.111-117, 2003.
- DELLAI, J. Filocrono em diferentes densidades de plantas de batata. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1269-1274, 2005.
- DEUNER, S.; ZANANDREA, I.; SILVEIRA, N.M.; MESQUITA, A.C.; GOULART, P.F.P.; ALVES, J.D. Stomatal behavior and components of the antioxidative system in coffee plants under water stress. **Scientia Agrícola**, v.68, n.1, p.77-85, 2011.
- DIAS, L. B. Água nas plantas. Universidade Federal de Lavras, Lavras MG, 2008.
- DIXIT, V.; PANDEY, V.; SHYAM, R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). **Environmental and Experimental Botany**. 52 (358): 1101–1109, 2001.
- DIXON, R. K.; MELDAHL, R. K.; RUARK, G. A.; WARREN, W. G. Process modeling of forest growth responses to environmental stress. **Portland: Timber Press**, 1990.
- ENNAHLI, S.; EARL, H. J. Physiological Limitations to Photosynthetic Carbon Assimilation in Cotton under Water Stress. **Crop Science**, v. 45, p. 2374-2382, 2005.
- NOBEL, P.S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. San Diego: Academic press, 635p, 1991.
- ENCINAS, J. I. Idade e crescimento das árvores. **Comunicações Técnicas Florestais**. Brasília: UNB, 47 p. v.7, n.1, 2005.
- FAGAN, E. B.; MEDEIROS, S. L. P.; BORCIONI, E.; LUZ, G. L.; SIMON, J.; JASNIEWICZ, L. R.; MANFRON, P. A.; MÜLHER, L.; DOURADO, N. D. Influência de intervalos entre Irrigações na fisiologia e produção de meloeiro sob sistema hidropônico. **R. bras. Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 429-436, out-dez, 2005.
- FERREIRA, M.; SANTOS, P. E. T. Melhoramento genético florestal do *Eucalyptus* no Brasil: breve histórico e perspectivas. In: CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF Eucalyptus, 1997, Salvador. **Anais EMBRAPA/CNPF**, p. 14-34, 1997.
- FERREIRA, C. A. G.; DAVIDE, A. C.; CARVALHO, L. R., Relações hídricas em mudas de *Eucalyptus citriodora* Hook., em tubetes, aclimatadas por tratamentos hídricos. **Cerne**, v.5 p. 95-104, 1999.

- FERNANDES, T. E. Fotossíntese e crescimento inicial de clones de eucalipto sob diferentes regimes hídricos. Dissertação (Mestrado em Agronomia), UESB, Campus de Vitória da Conquista –BA, 2012.
- FINGER, C. A. G.; SCHNEIDER, P. R.; KLEIN, J. E. M. Produção de Florestas de Eucalyptus grandis Hill ex mainden em segunda rotação, conduzidas com um broto por touça e submetida a interplantio. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria/RS. n.1, p.185-201. 1993.
- FORTUNATO, A. S.; GOULAO, L. F.; RODRIGUES, A. D.; JACKSON, P.; PARTELLI, F. L.; RIBEIRO, A. I.; RAMALHO, J. C. Sistema antioxidativo de *coffea* sp. na capacidade de aclimatação a estresse simultâneo de frio e seca. **VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2011.
- FLORIANI, M. M. P.; STEFFENS, C. A.; CHAVES, D. M.; AMARANTE, C. V. T.; PIKART, T. G.; RIBEIRO, M. S. Relação entre concentrações foliares de carboidratos solúveis totais e tolerância ao frio em diferentes espécies de *eucalyptus spp.* **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 165-174, jan.-mar., 2013.
- FREITAS JUNIOR, G; MARSON, A. A; SOLERA, D. A. G. Os Eucaliptos No Vale Do Paraíba Paulista: Aspectos Geográficos E Históricos. **Revista Geonorte**, Edição Especial, V.1, N.4, p.221 237, 2012.
- GARCIA, R. D'A. Qualidade das mudas clonais de dois híbridos de eucalipto em função do manejo hídrico. **Dissertação** (Mestre em Ciência Florestal), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu SP, 2012.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutase: I occurrence in higher plants. **Plant Physiology,** Waterbury, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.
- GOMES, J. M. Parâmetros morfofisiológicos na avaliação da qualidade de mudas de *eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, v. 26 n. 6, p. 655- 664, 2002.
- GONÇALVES, J. F. de C.; SILVA, C. E.; GUIMARÃES D. G.; BERNARDES, R. S., Análise dos Transientes da Fluorescência da Clorofila *a* de Plantas Jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* Submetidas a Dois Ambientes de Luz. **Acta amazônica**, v.40 p. 89-98, 2010.
- GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W. E.; QUICK, W. P.; ATHERTON, N. M. Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. **New Phytologist**, Lancaster, v.148, p.267-276, 2000.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology,** Waterbury, v. 84, n. 2, p. 450-455, June. 1987.
- HEBER, U., BLIGNY, R., STREB, P., DOUCE, R. Photorespiration is essential for the protection of the photosynthetic apparatus of C3 plants against photoinactivation under sunlight. **Botanica Acta**, v.109, p.307–315. 1996.

- HODGES, T. F. Predict crop phenology. Boca Raton: CRC, p. 233, 1991.
- HOPKINS, W. G., Introduction to plant physiology. 2. ed. New York: J. Wiley, p. 512, 1995.
- HUANG D.; WU L.; CHEN J. R. e DONG L., Morphological plasticity, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of Athyrium pachyphlebium at different shade levels. **Photosynthetica**, v.49, p. 611-618, 2011.
- IPEF (Instituto de Pesquisa e estudos Florestais). Indicações para escolha de espécies de *Eucalyptus*, 2005. Disponivel em: http://www.ipef.br/identificacao/eucalyptus/indicacoes.asp.
- INOUE, M. T.; RIBEIRO, F. A. Fotossíntese e transpiração em *Eucalyptus grandis* e *saligna*. **IPEF**, n.40, p.15-20, 1988.
- ISEPPON, A. M. B.; CAVALCANTI, N. M. S.; BERLARMINO, L. C.; NETO, J. P. B.; AMORIM, L. L. B.; NETO, J. R. C. F.; PANDOLFI, V.; AZEVEDO, H. M. A.; SILVA, R. L. O.;
- SANTOS, M. G.; ALVES, M. V. S.; KIDO, E. A. Prospecção de Genes de Resistência à Seca e à Salinidade em Plantas Nativas e Cultivadas. **Revista Brasileira de Geografia Física** 06, 1112-1134 (2011).
- KAPPUS, H. Lipid peroxidation: Mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance.In: Sies H (ed), **Oxidative stress**, Academic Press, London, p.273-310, 1985.
- KOZLOWSKI, T. T.; KRAMER, P. J. & PALTARDY, S. G. The physiological ecology of woody plants. **San Diego**. Acad. Press, 1991.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Tradução: Prado, C. H. B. A. São Carlos: Ed. Rima, 2006, p. 531.
- LARCHER, W.; KAINMULLER, C.; WAGNER, J. Survival types of high mountain plants under extreme temperatures. **Flora**, 205: 3-18 (2010).
- LARRÉ, C. F. Caracterização morfológica, fisiológica e bioquímica da Corticeira-do-banhado em condições de alagamento. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Universidade Federal de Pelotas, 2011.
- LA VEGA, M. L. B. P. **Fitomonitoração e modelagem de fotossíntese em jatobá** (*Hymenaea courbaril* **L.) com redes neurais artificiais.** Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica), Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2003.
- LIMA, W. P. **Impacto ambiental do eucalipto**. São Paulo: Universidade de São Paulo,1996. 301p.
- LIMA, W. P.; JARVIS, P.; RHIZOPOULOU, S. Stomatal responses of eucalyptus species to elevated CO₂ concentration and drought stress. **Scientia Agricola**.

- Piracicaba, v. 2, p. 231-238, 2003.
- LIN, C. C. & KAO, C. H. Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings. **Plant and Soil**, 230: 135-143, 2001.
- LIN, M. J.; HSU, B. D. Photosynthetic plasticity of Phalaenopsis in response to different light environments. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 161, p. 1259-68, 2004.
- LIRA, J. M. S. Tolerância cruzada em sementes osmocondicionadas de Melão (*Cucumis melon* L.) e Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Dissertação** (Título de Mestre). Universidade Federal de Lavras- MG, 2012.
- LOPES, M. C. Agrupamento de Árvores matrizes de *eucalyptus grandis* em função das variáveis dendrométricas e das características tecnológicas da madeira. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.
- LOPES, T. S. Crescimento inicial e ecofisiologia de clones de eucalipto sob diferentes condições climáticas. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal) Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 117 f, 2009.
- LOPES, J. L. W.; GUERRINI, I. A.; SILVA, M. R.; SAAD, J. 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**, Viçosa-MG, v.35, n.1, p.31-39, 2011.
- LU, P.; SANG, W.; MA, K. Activity of stress-related antioxidative enzymes in the invasive plant crofton weed (*Eupatorium adenophorum*). **J. Integrative Plant Biol**., v. 49, v. 11, p. 1555–1564, 2007.
- LUTTGE, U. Interaction of stress factores and the middaydepression in plants with C3: photosynthesis. **Physiological Ecology of Tropical Plants**, v. 35, p. 122-124, 1997.
- LUZ, G. L. Frequência de irrigação do cultivo hidropônico da alface. **Dissertação** (Mestre em Agronomia), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria RS, 2008.
- MACHADO, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V. Efeito da baixa temperatura noturna e do porta-enxerto na variação diurna das trocas gasosas e na atividade fotoquímica de laranjeira 'valência'. **Rev. Bras. Frutic.** vol.32 nº.2 Jaboticabal June 2010 Epub June 18, 2010.
- MAIA, J. M.; SERGIO LUIZ FERREIRA-SILVA, S. L. F.; VOIGT, E. L.; MACEDO, C. E. C.; PONTE, L. F. A.; SILVEIRA, J. A. G. Atividade de enzimas antioxidantes e inibição do crescimento radicular de feijão caupi sob diferentes níveis de salinidade. **Acta Botanica Brasilica** 26(2): 342-349. 2012.

- MALANGA, G.; PUNTARULO, S. Oxidative stress and antioxidant content in *Chlorella vulgaris* after exposure to ultraviolet-B radiation. **Physiologia Plantarum**, v.94, p.672-679, 1995.
- MANTOVANI, M. Fenologias reprodutivas de espécies arbóreas em uma formação secundária da floresta Atlântica. **Revista Árvore**, v. 27 n. 4, p. 451- 458, 2003. MARTINS, F. B. **Desenvolvimento e estresse hídrico em mudas de** *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden) e *Eucalyptus saligna* (Smith). Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.
- MARTINS, F. B; SILVA, J. C; STRECK, N. A. Estimativa da temperatura-base para emissão de folhas e do filocrono em duas espécies de eucalipto na fase de muda. R. Árvore, Viçosa-MG, v.31, n.3, p.373-381, 2007.
- MARTINS, F. B.; STRECK, N. A.; SILVA, J. C.; MORAES, W. W.; SUSIN, F.; NAVROSKI, M. C.; VIVIAN, M. A. Deficiência hídrica no solo e seu efeito sobre transpiração, crescimento e desenvolvimento de mudas de duas espécies de eucalipto. **R. Bras**. Ci. Solo, 32:1297-1306, 2008.
- MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das Angiospermas: Myrtales. Santa Maria**. Ed. Da UFSM. p. 304, 1997.
- MARRICHI, A. H. C. Caracterização da capacidade fotossintética e da condutância estomática em sete clones comerciais de *Eucalyptus* e seus padrões de resposta ao déficit de pressão de vapor. Dissertação (mestrado em Recursos Florestais), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- MARTINAZZO, E. G.; PERBONI, A. T.; OLIVEIRA, P. V. BIANCHI, V. J.; BACARIN, M. A. Atividade fotossintética em plantas de ameixeira submetidas ao déficit hídrico e ao alagamento. **Ciência Rural**, v.43, n.1, jan, 2013.
- MATÉS, J. M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular controlo f reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, 153, 83-104, 2000.
- MARTINEZ, C. A.; LOUREIRO, M. E.; OLIVA, M. A.; MAESTRI, M. Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant *Solanum curtilobum* and freezing sensitive *Solanum tuberosum* subjected to oxidative and water stress. **Plant Science**, v.160, p.505–515, 2001.
- MENDONÇA, A. V. R.; CARNEIRO, J. G. A.; BARROSO, D. G.; SANTIAGO, A. R.; FREITAS, T. A. S.; SOUZA, J. S. Desempenho de quatro espécies de *Eucalyptus spp* em plantios puros e consorciados com sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth) em cava de extração de argila. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v.32, n.3, p.395-405, 2008. MESKIMEN, G.; FRANCIS, J. K. **Eucalyptus grandis Hill (Ex Maiden) Rose gum Eucalyptus**(2006). Disponível em: http://www.na.fs.fed.us/Spfo/pubs/silvics_manual/volume_2/eucalyptus/grandis.htm.

MESKIMEN, G.; FRANCIS, J. K. Eucalyptus grandis Hill (Ex Maiden) Rose gum Eucalyptus.

Disponível

em: http://www.na.fs.fed.us/Spfo/pubs/silvics_manual/volume_2/eucalyptus/grandis.htm.

MILLER G.; SHULAEV V.; MITTLER R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress. **Physiologia Plantarum**, v.133, p. 481-489, 2008.

MITTOVA, V.; GUY, M.; TAL, M. & VOLOKITA, M. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. **Journal of Experimental Botany 55**: 1105-1113, 2004.

MCMAHON, L.; GEORGE, B.; HEAN, R. Eucalyptus saligna. Primefact 1057, 2010.

NAKANO, Y & ASADA. K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach cloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto. 22:867-880.1981.

NEMOTO, S.; OTSUKA, M.; ARAKAWA, N. A positive correlation between catalase activity and ascorbate uptake in the tissues of guinea pigs and cultured cells of mammals. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, v.42, n.5, p.387-395, 1996.

NOVAES, A. B. Avaliação morfológica da qualidade de mudas de *Pinus taeda* L. produzidas em raiz nua e em diferentes tipos de recipientes. 116 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

OLIVEIRA, L. A. Análise transcricional dos genes *ISA1, NFS1, ISU1* de *eucalyptus grandis* sob estresse. Dissertação, UFRGS, 2008.

OLIVEIRA, L. M. Potencial de Samambaias para fitorremediação de arsênio. **Tese** (Título de Doutor), Universidade Federal de Lavras, Lavras – Minas Gerais, 2012.

PAIVA, H. N.; VITAL, B. R. **Escolha da espécie florestal**. Viçosa: Editora UFV. 2008. p. 10-20.

PANDA, S. K. & KHAN, M. H. Growth, oxidative damage and antioxidant responses in greengram (*Vigna radiata* L.) under short-term salinity stress and its recovery. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.195, p. 442–454, 2009.

PASTORI, G. M.; FOYER, C. H. Common components, networks and pathways off cross-tolerance to estress. The central role of "redox" and abscísic acid-mediated controls. **Plant Physiology**, Rockville, v. 129, n. 2, p. 460-468, 2002.

PANCHUK, I. I.; VOLKOV, R. A. V.; SCHO"FFL, F. Heat Stress and Heat Shock Transcription Factor- Dependent Expression and Activity of Ascorbate Peroxidase in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Vol. 129, pp. 838–853, 2002.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. Agrometeorologia: **Fundamentos e aplicações práticas**. Guaíba: ed. Agropecuária. 478 p, 2002.

- PEREIRA, M. R. R. Comportamento fisiológico e morfológico de clones de *Eucalyptus sp.* W. (Hill ex Maiden) submetidas a diferentes níveis de água no solo. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia Irrigação e Drenagem) Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2006.
- PEREIRA, F. J.; MAGALHÃES, P. C.; SOUZA, E. M. C.; ALVES, J. D. Atividade do sistema antioxidante e desenvolvimento de aerênquima em raízes de milho 'Saracura'. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v.45, n.5, p.450-456, maio 2010.
- PEREIRA S. P.; BARTHOLO G. F.; BALIZA D. P.; SOBREIRA F. M.; GUIMARÃES R. J. Crescimento, produtividade e bienalidade do cafeeiro em função do espaçamento de cultivo. **Pesquisa. Agropecuária Brasileira**, v.46, p.152-160, 2011.
- PEREIRA, B. C.; PEREIRA, A. K. T. Radicais Livres: Uma nova abordagem. **Revista Saúde Quântica** / vol.1 nº 1 / Jan Dez 2012.
- PERBONI, A. T.; CASSOL, D.; SILVA, F. S. P.; SILVA, D. M.; BACARIN, M. A. . Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of flooding in canola hybrids. **Biologia (Bratislava)**, in press 2012.
- PIRES, M. F. Comportamento fisiológico, anatômico e citométrico de *Panicum* aquaticum Poir. expostos a diferentes metais pesados. Dissertação (Título de Mestre), Universidades Federal de Lavras, Lavras MG, 2012.
- PIVETTA, C. R; HELDWEIN, A. B; MALDANER, I. C; RADONS, S. Z; TAZZO, I. F; LUCAS, D. D. Evapotranspiração máxima do pimentão cultivado em estufa plástica em função de variáveis fenométricas e meteorológicas. R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental, v.14, n.7, p.768–775, 2010.
- RASCON, N. J. L. Modelagem Ecofisiológico do desenvolvimento do Eucalipto na Amazônia. **Dissertação** (Título de *Magister Scientie*). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa Minas Gerais, 2012.
- REMADE Revista da Madeira. A madeira de eucalipto na indústria moveleira, edição n. 70 março de 2003. Disponível em: http://www.remade.com.br/br/revistadamadeira_materia.php?num=297&subject=Eucal pto&title=A%20madeira%20de%20eucalipto%20na%20indústria%20moveleira.
- RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatolologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 123-130. Mar. /abr. 2003.
- RIBEIRO, R. V.; MACHADO, E. C.; OLIVEIRA, R. F. Photosynthesis and water relations of well-watered orange plants. **Photosynthetica**, 47 (2): 215-222, 2009.
- RIBEIRO, C. W. Analise funcional das isoformas citosólicas e peroxissomais de ascorbato peroxidase em Arroz (*Oryza sativa* L). **Tese** (Doutor em Ciências), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre RS, 2012.

- RODRIGUES, H. J. B.; COSTA, R. F.; RIBEIRO, J. B. M.; FILHO, J. D. C. S.; RUIVO, M. L. P.; JÚNIOR, J. A. Variabilidade sazonal da condutância estomática em um ecossistema de manguezal amazônico e suas relações com variáveis meteorológicas. Revista Brasileira de Meteorologia, v.26, n.2, 189 196, 2011.
- SANDALIO, L. M.; DALURZO, H. C.; GOMEZ, M., ROMERO-PUERTAS, M. C.; del Rio, L. A. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. **Journal of Experimental Botany**, 52: 2115–2126, 2001.
- SANDS, P. J.; LANDSBERG, J. J. Parameterisation of 3-PG for plantation grown *Eucalyptus globules*. **Forest Ecology and Management**, v.163, p.273-292, 2002.
- SANT' ANNA, H. L. S. **Aspectos fisiológicos de variedades de citros submetidas à deficiência hídrica progressiva. 2009**. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas BA, 2009.
- SANTANA, R. C; BARROS, N. F; NOVAIS, R. F; LEITE, H. G; COMERFORD, N. B. Alocação de nutrientes em plantios de eucalipto no Brasil. **R. Bras. Ci. Solo**, 32:2723-2733, Número Especial, 2008.
- SANTOS, D. S.; SIQUEIRA, D. L.; CECON, P. R. Indução floral de limeiras ácidas 'Tahiti' submetidas a baixas temperaturas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 3, p. 397-403, mar, 2011.
- SANSÍGOLO, C. A.; RAMOS. E. S. Qualidade da madeira e da celulose de um clone de eucalyptus grandis plantado em três locais. **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 1, p. 47-60, jan./mar. 2011.
- SATO, Y.; MASUTA, Y.; SAITO, K.; MURAYAMA, S.; OZAWA, K. Enhanced chilling tolerance at the booting stage in rice by transgenic overexpression of the ascorbate peroxidase gene, OsAPXa. **Plant Cell Reports**, v. 30, n. 3, 2011.
- SILVA, I. R.; FURTINI NETO, A. E.; CURI, N.; VALE, F. R. Crescimento inicial de quatorze espécies florestais nativas em resposta à adubação potássica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 205-212, fev. 1997.
- SILVA, H. D.; FERREIRA, C. A.; CORRÊA, R. S.; BELLOTE, A. F. J.; TUSSOLINI, E. L. Alocações de biomassa e ajuste de equações para estimativa de biomassa em compartimentos aéreos de *Eucalyptus benthamii*. **Bol. Pesq. Fl**., Colombo, n. 49, p. 83-95, 2004.
- SILVA, W.; SEDIYAMA, T.; SILVA, A. A. & CARDOSO, A. A. Índice de consumo e eficiência do uso da água em eucalipto, submetido a diferentes teores de água em convivência com a braquiária. **Floresta**, 34: 325-335, 2004.
- SILVA, F. M. C. C. Diferenças na resposta a défices hídricos e a baixas temperaturas em dois clones de *Eucalyptus globulus* Labill. Com contrastante sensibilidade à secura. Doutoramento em Engenharia Florestal, Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 2008.

- SILVA, A. C. Crescimento, produtividade e alocação de reservas da figueira, em diferentes condições de cultivo. **Tese** (Título de Doutor em Agronomia), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu –SP, 2011.
- SILVA JÚNIOR, G. S. Respostas biométricas, ecofisiológicas e nutricionais em genótipos diplóides de bananeira (Musa spp) submetidos à salinidade. Tese (Doutorado em Botânica) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.
- SINHA, S.; SAXENA, R. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and nonenzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. **Chemosphere**, v.62, p.1340-1350, 2006.
- SOARES, P.; M. TOMÉ E J. S. PEREIRA. A produtividade do eucaliptal. In O Eucaliptal em Portugal. Impactes Ambientais e Investigação Científica. Eds. A. M. Alves, J. S. Pereira e J. M. N. Silva. **ISAPress**, Lisboa, pp. 27-59, 2007.
- SONOIKE, K. Various aspects of inhbition of photosynthesis under light/chilling stress: "Photoinhibition at chilling temperatures "versus" chilling damage in the light. Journal of Plant Research, v. 111, p. 121-129, 1998.
- SOUZA, C. D.; FERNANDES, D. P.; BARROSO, M. R.; PORTES, T. A. Transpiração de espécies típicas do cerrado medida por transpirômetro de equilíbrio e porômetro. **Cerne, Lavras**, v. 17, n. 4, p. 509-515, 2011.
- SOUZA, M. J. H.; RIBEIRO, A.; LEITE, H.G.; LEITE, F.P.; MINUZZI, R.B. Relação entre disponibilidade hídrica e produtividade de eucalipto em diferentes idades, em Guanhães, Minas Gerais. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v.10, n.3, p.629–638, 2006.
- SCHOCK, A. A. Características fisiológicas e anatômicas de pinhão manso conduzidos em diferentes condições de luminosidade. Dissertação, Universidade Federal de Pelotas, 2012.
- SCANDALIOS, J. G. Oxygen estress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, n. 1, p. 7-12, Jan 1993.
- SCANDALIOS, J. Oxidative stress responses What have genome-scale studies taught us. **Genome Biology**, 3: 1–6, 2002.
- SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y.; YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, v.53, n.372, p.1305-1319, 2002.
- SKOLMEN, R. G. *Eucalyptus saligna* **Smith Saligna** *Eucalyptus*. Disponível em: http://na.fs.fed.us/spfo/pubs/silvics_manual/volume_2/ eucalyptus/saligna.htm.
- SHAH, K. et al. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Science**, v.161, p.1135-1144, 2001.

- STRECK, N. A. A generalized nonlinear air temperature response function for node appearance rate in muskmelon (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.10, n.1, p.105-111, 2002.
- STRECK, N. A. et al. Estimating the phyllochron in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.). **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1448-1450, 2005b.
- STRECK, N. A. et al. Estimativa do plastocrono em meloeiro (*Cucumis melo* L.) cultivado em estufa plástica em diferentes épocas do ano. Ciência Rural, v.35, n.6, p.1275-1280, 2005a.
- TATAGIBA, S. D. CRESCIMENTO INICIAL, TROCAS GASOSAS E STATUS HÍDRICO DE CLONES DE EUCALIPTO SOB DIFERENTES REGIMES DE IRRIGAÇÃO. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2006.
- TATAGIBA S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; Reis, E. F. Relações hídricas e trocas gasosas na seleção precoce de clones de eucalipto para ambientes com diferenciada disponibilidade de água no solo. **Floresta,** Curitiba, PR, v. 38, n. 2, abr./jun. 2008.
- TAIZ L.; ZEIGER E., Plant Physiology, Fifth Edition , Sinauer Associates. Sunderland, MA, 2013.
- TOLEDO, J. V. Avaliação do estabelecimento de mudas de eucalipto sob déficit hídrico. **Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)**, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre ES, 2012.
- TONELLO, K. C. Comportamento ecofisiológico de clones de *Eucalyptus*. **Tese** (Doutor em Engenharia Agrícola), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2010.
- TONINI, H. Crescimento e produção de clones de *Eucalyptus saligna* Smith, na depressão central e serra do sudoeste. Rio Grande do Sul. **Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)** UFSM, Santa Maria, 2003.
- TREVISAN, R. Efeito do desbaste nos parâmetros dendrométricos e na qualidade da madeira de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. 2010. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- TRUGILHO, F. P.; LIMA, J. S.; MENDES, L. M. INFLUÊNCIA DA IDADE NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E ANATÔMICAS DA MADEIRA DE *Eucalyptus saligna.* Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, UFLA/DCF, 1995.
- VALENTE, C. Efeito do estresse pelo frio sobre células embriogênicas de *Araucaria* angustifolia em cultura: disfunção mitocondrial e estresse oxidativo. **Tese** (Doutor em Ciências Bioquímica), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

- 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**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 651-663, 2008.
- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative estress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, Feb. 2000.
- VIEIRA, M.; SCHUMACHER, M. V.; LIBERALESSO, E. CRESCIMENTO E PRODUTIVIDADE DE POVOAMENTOS MONOESPECÍFICOS E MISTOS DE EUCALIPTO E ACÁCIA-NEGRA. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 415-421, jul./set. 2011.
- VILAS BÔAS, O; MAX, J. C. M; MELO, A. C. G. CRESCIMENTOCOMPARATIVO DE ESPÉCIES DE Eucalyptus E Corymbia NO MUNICÍPIO DE MARÍLIA, SP¹. Rev. Inst. Flor., São Paulo, v. 21, n. 1, p. 63-72, jun. 2009.
- YAN, W.; HUNT, L. A. An equation for modeling the temperature response of plants using only the cardinal temperatures. **Annals of Botany**, v. 84, n. 5, p. 607-614, 1999.
- YIN, X.; KROPFF, M. J.; MCLAREN, G.; VISPERAS, R. M. A nonlinear model for crop development as a function of temperature. **Agricultural and Forest Meteorology, Amsterdam**, v.77. p. 1-16, 1995.
- WALTER A.; SILK W. K.; SCHURR U., Environmental Effects on Spatial and Temporal Patterns of Leaf and Root Growth. **Annual Review of Plant Biology**, v.60, p. 279–304, 2009.
- WILLEKENS, H.; INZÉ, D.; VAN MONTAGU, M.; VAN CAMP, W. Catalases in plants. **Moleculr Breeding**, v. 1, n. 3, p. 207-228, 1995.
- WOLSCHICK, D.; MARTINEZ, M. A.; FONTES, P. C. R.; MATOS, A. T. de. Implementação e teste de um modelo mecanístico de simulação do crescimento e desenvolvimento de plantas de milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 271-278, 2007.
- WHITEHEAD, D. & BREADLE, C.L. Physiological regulation of productivity and water use in Eucalyptus: A review. For. Ecol. Manag., 193:113-140, 2004.
- ZANANDREA, I.; ALVES, J.D; DEUNER, S; GOULART, P.F.P; HENRIQUE, P. C; SILVEIRA, N. M. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany (Print)**., v.57, p.661 669, 2010
- ZHANG, J.; KIRKHAM, M.B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. **Journal of Plant Physiology**, v.149, n.5, p.489-493, 1996.

ZHANG, S. P.; HU, H.; XU, K.; LI, Z. R.; YANG, Y. P. Flexible and reversible responses to different irradiance levels during photosynthetic acclimation of *Cypripedium guttatum*. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdam, v. 164, p. 661-620, 2007.

ZHOU, R & ZHAO, H. Seasonal pattern of antioxidant enzyme system in the roots of perennial forage grasses grown in alpine habitat, related to freezing tolerance. **Physiologia Plantarum**. 121: 399-408, 2004.