

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL**

Luiza Michelon Somavilla

**PRODUTIVIDADE DE MINICEPAS E ENRAIZAMENTO DE
MINIESTACAS DE *Eucalyptus* spp. CULTIVADAS EM DIFERENTES
MANEJOS DE MINIJARDIM CLONAL**

Santa Maria, RS.
2020

Luiza Michelon Somavilla

**PRODUTIVIDADE DE MINICEPAS E ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE
Eucalyptus spp. CULTIVADAS EM DIFERENTES MANEJOS DE MINIJARDIM
CLONAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do título de **Mestra em Engenharia Florestal**.

Orientador: Prof. Dra. Maristela Machado Araujo

Santa Maria, RS.
2020

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Somavilla, Luiza Michelon
Produtividade de minicepas e enraizamento de
miniestacas de Eucalyptus spp. cultivadas em diferentes
manejos de minijardim clonal / Luiza Michelon Somavilla.
2020.
89 p.; 30 cm

Orientadora: Maristela Machado Araujo
Coorientadora: Luciane Almeri Tabaldi
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Engenharia Florestal, RS, 2020

1. Propagação vegetativa 2. Estufim 3. Fluorescência
da clorofila a I. Araujo, Maristela Machado II.
Tabaldi, Luciane Almeri III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, LUIZA MICHELON SOMAVILLA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Luiza Michelon Somavilla

**PRODUTIVIDADE DE MINICEPAS E ENRAIZAMENTO DE
MINIESTACAS DE *Eucalyptus* spp. CULTIVADAS EM DIFERENTES
MANEJOS DE MINIJARDIM CLONAL**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do título de **Mestra em Engenharia Florestal**.

Aprovada em 21 de fevereiro de 2020.

Prof. Dra. Maristela Machado Araujo (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Dr. Cleber Witt Saldanha (DDPA/SEAPDR)

Prof^a. Dr. Ezequiel Gasparin (UFSM)

Santa Maria, RS.
2020

*Aos meus pais, Lorinei e Cleci,
minha irmã Bruna,
minha avó Val Tereza,
meu namorado Diogo
dedico esse trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, pelas possibilidades e por me iluminar em todos os momentos difíceis encontrados durante esse período.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de pós-Graduação em Engenharia Florestal pela oportunidade de acesso ao conhecimento e por toda estrutura disponibilizada. As instituições de fomento à pesquisa, especialmente a CAPES pela concessão da bolsa de estudos aos estudantes da Pós-graduação.

À professora Maristela Machado Araujo pela oportunidade, conhecimento e contribuições. Aos alunos da iniciação científica do Laboratório de Silvicultura e Viveiro Florestal, Julia, Luis Eduardo, Marina, Marllos e Vanessa, que contribuíram para a realização deste trabalho, pela amizade, companhia em viagens e sorrisos compartilhados.

Aos colegas da Pós-graduação do Laboratório de Silvicultura e Viveiro Florestal, Adriana, André, Claudia, Felipe, Juliane, Luciana e Nayara, pela convivência no dia a dia, pelas conversas, pelos momentos de lazer e pelo auxílio durante a realização deste trabalho.

Aos colegas, Álvaro e Suelen, agradeço de coração por toda contribuição, auxílio nas análises e na escrita, pelas inúmeras viagens e conversas, pelo apoio, por não me deixarem desanimar durante essa caminhada.

À empresa CMPC Celulose Riograndense pelo espaço e auxílio na condução dos experimentos e apoio à pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal por todo o conhecimento e experiências compartilhados durante o período.

Ao prof. Gustavo Brunetto e a prof^ª. Daniela Guimarães Simão pela amizade e pelas conversas durante todo os anos da vida acadêmica.

Às colegas de apartamento durante o período de permanência em Santa Maria, pelo convívio, trocas de ideias, paciência e amizade.

Aos colegas de trabalho da Prefeitura Municipal de Estrela Velha pela compreensão, apoio e incentivo durante o período de escrita da dissertação.

Ao meu namorado, Diogo, por toda compreensão, carinho, apoio e amizade durante os anos.

Aos amigos que sempre deram palavras de apoio, incentivo e carinho.

À minha família pelo incentivo.

Aos meus pais que nunca mediram esforços para que eu pudesse acessar o ensino.

Muito Obrigada!

“Se você quer saber como um homem é, preste atenção em como ele trata quem é inferior a ele, não seus iguais. ”

“São as nossas escolhas, mais do que as nossas qualidades, que mostram quem realmente somos. ”

“Não vale a pena viver sonhando e se esquecer de viver. ”

J. K. Rowling

RESUMO

PRODUTIVIDADE DE MINICEPAS E ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE *Eucalyptus* spp. CULTIVADAS EM DIFERENTES MANEJOS DE MINIJARDIM CLONAL

AUTORA: Luiza Michelon Somavilla

ORIENTADORA: Maristela Machado Araujo

O gênero *Eucalyptus* é amplamente plantado no Brasil e a implantação de novos povoamentos demanda mudas em quantidade e qualidade. O uso de estufim sobre o minijardim clonal (MJC) promove mudanças no microambiente, como aumento da temperatura e umidade, e consequentemente, aumento da produtividade das minicepas melhorando a qualidade das miniestacas produzidas. O objetivo do estudo foi avaliar a influência do uso do estufim durante a estação do inverno na produtividade, morfologia e fisiologia das minicepas, sobrevivência e enraizamento das estacas e, qualidade das mudas produzidas. O estudo foi realizado no inverno/2018, no Horto Florestal Barba Negra, no estado do Rio Grande do Sul. O experimento foi conduzido em delineamento blocos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas, com dois tipos de manejo do minijardim na parcela principal (com e sem estufim) e três clones nas subparcelas, com seis repetições de 72 cepas, organizadas em espaçamento de 10 cm x 11 cm e dispostas na configuração 8 x 9, totalizando 432 minicepas por tratamento. O MJC foi constituído por três clones: *E. saligna*, *E. dunnii* e *E. urophylla* x *E. globulus* (*E. uroglobulus*). Os atributos morfológicos, fisiológicos e a produtividade das minicepas, bem como os fatores ambientais foram avaliados nos dois MJCs. A avaliação da sobrevivência e enraizamento das miniestacas foi realizada nos materiais provenientes de ambos ambientes. Também foram avaliados os atributos morfológicos das mudas aos 90 dias após o estaqueamento. Os dados foram submetidos à análise de variância, considerando dois fatores: manejo do MJC e clones. Adicionalmente realizou-se uma análise de componentes principais (PCA) com o objetivo de encontrar os pesos de cada variável para maximizar a variância entre os pontos de amostragem. O MJC com estufim apresentou aumento da temperatura, umidade relativa do ar e déficit de saturação do vapor d'água. As minicepas do MJC com estufim apresentaram maior teor de clorofila *a*, redução na produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e da atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD). As minicepas do MJC com estufim apresentaram maior taxa de transporte de elétrons (ETR_m) e rendimento quântico efetivo do fotossistema II (Y_(II)), atributos que estão diretamente relacionados com o enraizamento, conforme demonstrado pela PCA. A produtividade e a sobrevivência foram indiferentes à presença do estufim, entretanto o enraizamento dos clones de *E. saligna* e *E. uroglobulus* foi favorecido pelo uso do estufim. As mudas provenientes de estacas do MJC com estufim apresentaram qualidade morfológica superior, considerando atributos como massa seca radicular e área foliar. Portanto, o uso do estufim no MJC é indicado para o inverno no Sul do Brasil, pois melhora a qualidade das minicepas e das mudas, além de proporcionar ganhos no enraizamento.

PALAVRAS-CHAVE: Fluorescência. Clones. Estufim. Mudas. Atributos morfológicos. Atributos fisiológicos.

ABSTRACT

MINI-STUMPS PRODUCTIVITY AND MINI-CUTTING ROOTING OF *Eucalyptus* spp. CULTURED IN DIFFERENT CLONAL MINI-GARDEN MANAGEMENT

AUTHOR: Luiza Michelon Somavilla

ADVISOR: Maristela Machado Araujo

The *Eucalyptus* genus is widely planted in Brazil and the implantation of new peoples requires a lot of quantity and quality. The use of estimation on the clonal mini-garden (CMG) promotes changes in the microenvironment, such as increased temperature and capture, and, consequently, increased research on mini-stumps improving the quality of the produced mini-cuttings. The objective of the study was to evaluate the influence of the use of the equipment during the winter season, the morphology and physiology of the mini-stumps, the survival and rooting of the mini-cuttings and the quality of the seedlings produced. The study was carried out in winter / 2018, at Horto Florestal Barba Negra, in the state of Rio Grande do Sul. The experiment was conducted in the design of surrounding blocks, in a split plot scheme, with two types of mini-garden management in the main plot (with and without mini-tunnels) and three clones in the subplots, with six replications of 72 strains, arranged in a space of 10 cm x 11 cm and configurations in the 8 x 9 configuration, totaling 432 mini-stumps per treatment. The CMG consisted of three clones: *E. saligna*, *E. dunnii* and *E. urophylla* x *E. globulus* (*E. uroglobulus*). The morphological, physiological and control attributes of mini-stumps, as well as the environmental factors applied in two MJs. An assessment of the survival and improvement of the mini-cuttings was carried out on the materials used in both environments. The morphological attributes of the changes were also taxed up to 90 days after establishment. The data were submitted to analysis of variance, considering two factors: management of the CMG and clones. Additionally, a principal component analysis (PCA) is carried out in order to find the weights of each variable to maximize the variation between the sampling points. The use of mini-tunnels in CMG with estimated increase in temperature, relative reduction in area and deficit of water vapor saturation. But also, higher content of chlorophyll *a*, reduction in the production of hydrogen (H_2O_2) and activity of the enzyme guaiacol peroxidase (POD). As CMG mini-stumps with mini-tunnels higher estimated values for electron transport (ETR_m) and effective yield of photosystem II ($Y_{(II)}$), attributes that are directly related to rooting, as demonstrated by the PCA. The evaluation and survival were indifferent to the presence of stocks, however the rooting of *E. saligna* and *E. uroglobulus* clones was favored by the use of mini-tunnels. As cuttings from CMG with mini-tunnels are superior morphological quality, considering characteristics such as root dry mass and leaf area. Therefore, the use of mini-tunnels CMG is indicated for the winter in southern Brazil, as it improves the quality of the mini-stumps and seedlings, in addition to offering gains in rooting.

KEYWORDS: Fluorescence. Clones. Mini-tunnels. Seedling plant. Morphological attributes. Physiological attributes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Caracterização climática média do período de condução do experimento (21 de junho/2018 – 23 de setembro/2018), Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS..... 41
- Figura 2 - Produtividade média das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS..... 50
- Figura 3 - Relação entre o componente principal 1 (PC1) e o componente principal 2 (CP2) para as variáveis avaliadas nas minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS..... 51
- Figura 4 - Sobrevivência das miniestacas provenientes de minicepas de *Eucalyptus* spp. desenvolvidas em MJC com e sem estufim na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS..... 52
- Figura 5 - Enraizamento das miniestacas provenientes de minicepas de *Eucalyptus* spp. desenvolvidas em MJC com e sem estufim na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS..... 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da solução nutritiva aplicada no MJC do Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.....	32
Tabela 2 - Caracterização anatômica das cepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.....	42
Tabela 3 - Atributos morfológicos das minicepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.....	43
Tabela 4 - Teor de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e carotenoides) de minicepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS	44
Tabela 5 - Caracterização bioquímica das minicepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS	45
Tabela 6 - Fluorescência da clorofila a das minicepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS	47
Tabela 7 - Quenching fotoquímico e não-fotoquímico das minicepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS	48
Tabela 8 - Parâmetros de fluorescência, $Y_{(II)}$, $Y_{(NPQ)}$ e $Y_{(NO)}$, das minicepas de <i>Eucalyptus</i> spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS	49
Tabela 9 - Caracterização das mudas de <i>Eucalyptus</i> spp. aos 90 dias após o estaqueamento produzidas na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 HIPÓTESES	16
3 OBJETIVOS	16
3.1 OBJETIVO GERAL	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4.1 GÊNERO <i>Eucalyptus</i>	17
4.2 FLORESTAS CLONAIS	20
4.3 TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS CLONAIS	21
4.4 MINIJARDIM CLONAL	22
4.5 ESTUFIM	23
4.6 PROPAGAÇÃO CLONAL PELA ESTAQUIA	23
4.7 VARIÁVEIS AMBIENTAIS	25
4.8 ATRIBUTOS ANATÔMICOS E MORFOLÓGICOS	26
4.9 ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS.....	28
5 METODOLOGIA.....	32
5.1 INSTALAÇÃO DO MINIJARDIM CLONAL (MJC)	32
5.2 TRATAMENTOS.....	33
5.3 VARIÁVEIS AMBIENTAIS ANALISADAS NO MJC	33
5.4 VARIÁVEIS ANALISADAS NAS MINICEPAS	34
5.5 AVALIAÇÃO DAS ESTACAS	37
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
6 RESULTADOS	40
6.1 TEMPERATURA MÉDIA, UMIDADE RELATIVA E DÉFICIT DE SATURAÇÃO DO VAPOR D'ÁGUA	40
6.2 ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS DAS MINICEPAS DE <i>Eucalyptus</i> spp.	41
6.3 ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS DAS MINICEPAS DE <i>Eucalyptus</i> spp.	43
6.4 PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS.....	49
6.5 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	50
6.6 AVALIAÇÃO DAS MINIESTACAS.....	51
7 DISCUSSÃO	56
8 CONCLUSÃO.....	65
9 REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os plantios florestais ocupam 7,83 milhões de hectares no Brasil, sendo responsável pela produção de 91% do total de madeira destinada para fins industriais, e contribuindo com 6,9% do total do PIB industrial brasileiro e 1,3% do PIB nacional (IBÁ, 2019a). Dentre as plantações, o gênero *Eucalyptus* corresponde a 5,7 milhões de hectares e nos últimos sete anos essa área aumentou 1,1% ao ano. Além disso, a silvicultura é responsável por gerar 3,8 milhões de empregos no país, sendo 513 mil de forma direta (IBÁ, 2019a).

As áreas ocupadas por florestas plantadas correspondem principalmente a plantios destinados para produção de celulose (36%), áreas de produtores independentes (29%) e carvão vegetal para siderurgia (12%). Mas também, para investimentos financeiros (10%), produção de painéis de madeira e piso laminado (6%), produtos sólidos de madeira (4%) e para outros fins diversos (3%) (IBÁ, 2019b). O Brasil é considerado o segundo maior produtor de celulose do mundo, com cerca de 19,5 milhões de toneladas, sendo também responsável pela produção de 10,5 milhões de toneladas de papel, produzido 100% a partir de florestas plantadas (IBÁ, 2019b).

A região Sul do Brasil detém a segunda posição com maior concentração de plantios florestais, dentre as espécies destaca-se os gêneros *Eucalyptus* e *Pinus*. O Rio Grande do Sul (RS) é o 5º estado com a maior área plantada de *Eucalyptus* spp., juntamente com o estado do Paraná, sendo que esses plantios são destinados para a indústria de produção de papel e celulose, serraria, indústria moveleira e painéis de madeira (IBÁ, 2019a).

O gênero *Eucalyptus* é amplamente plantado em regiões tropicais, subtropicais e temperadas devido ao seu rápido crescimento, tempo curto de rotação, adaptabilidade a diversas condições ambientais e pela qualidade da madeira, adequada para produção de celulose e papel, dentre outros fins (BALDIN et al., 2017; GOMES et al., 2015). O maior rendimento em celulose ($\pm 50\%$), a elevada densidade da madeira e o baixo teor de lignina são características ideais para matéria-prima destinada na produção de celulose, pois no processo de branqueamento da polpa ocorre baixo consumo específico de cloro (FONSECA et al., 2010; HARDNER et al., 2016; RAYMOND et al., 2010).

A superioridade de crescimento das florestas clonais e a maior produtividade de madeira é dependente da produção de mudas em quantidade e qualidade. Portanto, a produção de celulose e papel com as características exigidas pelo mercado é dependente da qualidade da

madeira usada como matéria-prima, além de técnicas que possibilitem a propagação em larga escala de espécies de interesse comercial (GALLO et al., 2018).

O sucesso da miniestaquia, processo mais usado para a propagação clonal de espécies de interesse comercial, depende principalmente da fase de enraizamento das miniestacas. A indução da formação de raízes é promovida pela desdiferenciação e direcionamento da totipotência das células para a indução da formação de meristemas que farão a iniciação das raízes adventícias (BORGES et al., 2011). O enraizamento é influenciado por diversos fatores, como: juvenilidade do material, genótipo, interações com o ambiente, temperatura, fisiológicos, balanço hormonal e nutrição mineral (BRONDANI et al., 2012; BRYANT; TRUEMAN, 2015; CUNHA et al., 2009a; CUNHA et al., 2009b; ALMEIDA et al., 2017; HARTMANN et al., 2011; WENDLING; XAVIER, 2001; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014). Desse modo, monitorar e conhecer os fatores que interferem na indução e crescimento de raízes é fundamental para o sucesso na produção de mudas via propagação vegetativa (CUNHA et al., 2009a).

As condições ambientais interferem no desenvolvimento e produtividade das minicepas, atributos fisiológicos, e também influenciam na indução da rizogênese dos propágulos vegetativos, fator determinante na clonagem comercial (ALFENAS et al., 2009; HARTMANN et al., 2011). O uso de minitúneis ou estufins sobre o minijardim clonal (MJC) promove mudanças no ambiente próximo das plantas, como aumento da temperatura média, da umidade relativa do ar e do déficit de saturação do vapor d'água, possibilitando o controle dos efeitos adversos do clima (BATISTA et al., 2015). Na agricultura, horticultura e silvicultura esses túneis baixos confeccionados com arco e filme plástico reduziram a perda de nutrientes por lixiviação, promoveram mudanças em processos fisiológicos das plantas, aumentaram a produtividade, e aceleraram o desenvolvimento das plantas, diminuindo o tempo de colheita (BATISTA et al., 2015; BENZ et al., 1996; WASSNER; RAVETTA, 2000).

Alguns dos fatores que limitam o crescimento das plantas são a temperatura, disponibilidade de água e incidência de luz (JAGTAP et al., 1998). Além disso, algumas espécies do gênero *Eucalyptus*, que pertencem a secção Maidenaria, são recalcitrantes ao enraizamento o que dificulta a propagação clonal (BRONDANI et al., 2009). A água é fundamental para as reações bioquímicas de todos os seres vivos, além disso, cada planta possui a temperatura ideal para o seu desenvolvimento (CARVALHO, 2012; HAZRATI et al., 2016; LUDLOW et al., 1990). Nesse sentido, estudar os atributos da fluorescência da clorofila *a* permite identificar a presença de dano fotossintético provocado por determinado fator ambiental, pois é uma variável sensível das plantas que pode ser utilizada na seleção de

genótipos com predisposição ao enraizamento (BAKER; ROSENQVIST, 2004; CALATAYUD et al., 2006; HAZRATI et al., 2016).

O território do Brasil é marcado por diversas regiões com características distintas de clima. A região Sul do Brasil é caracterizada por estações bem definidas e invernos rigorosos. Alguns estudos demonstraram que a produtividade e enraizamento das miniestacas são influenciados pelas variações climáticas (BRONDANI et al., 2010; BATISTA et al., 2015; ANGEL et al., 2018). Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do uso do estufim durante a estação fria sobre a produtividade, fisiologia das minicepas, sobrevivência, enraizamento das miniestacas e qualidade das mudas produzidas.

2 HIPÓTESES

1. O uso de miniestufim aumenta a produtividade, sobrevivência e enraizamento das miniestacas.

2. O uso de estufim promove alterações bioquímicas como a ativação de enzimas antioxidantes que atuam no menor acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROS), permitindo maior produtividade das minicepas, sobrevivência e enraizamento das miniestacas.

3. O uso de estufim aumenta a taxa de transporte de elétrons, assim como o rendimento quântico máximo do fotossistema II.

4. Diferentes clones apresentam características morfológicas, fisiológicas e anatômicas distintas no MJC, mediadas pela temperatura e umidade do ar, o que, conseqüentemente, influencia na produtividade das minicepas e enraizamento das miniestacas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do uso de estufim no MJC na produtividade e fisiologia de minicepas, estacas e mudas de *Eucalyptus* spp.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a. Identificar se o manejo do MJC com o uso de estufim durante o inverno influencia na produtividade, características morfológicas e fisiológicas das minicepas.

b. Verificar se o uso do estufim durante o inverno influencia na sobrevivência e enraizamento das miniestacas.

c. Correlacionar as variáveis ambientais (temperatura, umidade relativa e déficit de pressão de saturação do vapor d'água) com os manejos do MJC com a produtividade, características morfológicas e fisiológicas de minicepas.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 GÊNERO *Eucalyptus*

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae e ocorre naturalmente na Austrália (Oceania) e Indonésia (Asia). Atualmente, são mais de 700 espécies reconhecidas botanicamente, porém poucas são utilizadas para cultivos com fins comerciais (EMBRAPA, 2014). O início dos plantios com *Eucalyptus* spp. ocorreu em 1868, no entanto os primeiros estudos só iniciaram em 1904, no estado de São Paulo (EMBRAPA, 2014).

O aumento das áreas com cultivo do gênero *Eucalyptus* no Brasil é resultado do seu rápido crescimento, da adaptabilidade em diversas regiões e usos de sua madeira (BERGER et al., 2002; PREVEDELLO et al., 2013). Nesse sentido, o plantio foi estimulado devido sua multiplicidade de usos para pequenas e grandes empresas (GONÇALVES et al., 2013). A matéria-prima pode ser usada para produção de energia, celulose e papel, serraria, construção civil, painéis de madeira e indústria farmacêutica. A celulose de fibra curta extraída da madeira tem alta demanda pelas indústrias brasileiras e o país exporta 69% de toda a produção (IBÁ, 2017). A celulose tem ampla aplicabilidade na indústria de produtos de higiene e curativos (BRZA-MALAZEWSKA et al., 2015), farmacêutica (ROCKWOOD; BOWMAN, 2017) e fabricação de papel (CARRILLO et al., 2018).

As florestas plantadas ocupam cerca de 7,83 milhões de hectares, que correspondem a apenas 1% do território brasileiro, e produzem 90% da madeira destinada para a indústria (IBÁ, 2019a). O setor florestal brasileiro é destaque na promoção da agricultura de baixa emissão carbono e na produção de forma sustentável (IBÁ, 2019a). As florestas plantadas reduzem a pressão sobre os recursos naturais, contribuindo para a conservação das florestas naturais, dos recursos hídricos e da fauna.

O Brasil é o líder mundial em produtividade por área plantada, com média de 36,0 m³ ha⁻¹ ano⁻¹ (IBÁ, 2019). Os plantios com o gênero *Eucalyptus* ocupam 5,7 milhões de hectares no território brasileiro e o estado do Rio Grande do Sul é o 5º maior em extensão de plantio da espécie (IBÁ, 2017). O aumento na área de florestas plantadas no Brasil é resultado de pesquisas que permitiram a compreensão de processos fisiológicos responsáveis pelo crescimento da floresta, como técnicas de cultivo mínimo (GONÇALVES et al., 2002), além de avanços no melhoramento genético e hibridação (ASSIS, 2014; GONÇALVES et al., 2008) e o entendimento da demanda e da época de aplicação de fertilizantes (LACLAU et al., 2005).

Além do aperfeiçoamento das práticas florestais e da adequada seleção de espécies adaptadas aos diversos tipos de clima que influenciam diretamente na taxa de crescimento dos diversos clones (BINKLEY et al., 2017). Esses avanços na pesquisa possibilitaram a produção de florestas homogêneas e maior volume de madeira por unidade de área (BERTI, 2010).

4.1.1 *Eucalyptus saligna* Smith.

Eucalyptus saligna é uma espécie com elevada densidade da madeira (ALZATE et al., 2005), com característica ideal para o uso em estruturas (ANJOS; FONTE, 2017), pois apresenta alta resistência à flexão e compressão, alta densidade básica e contração volumétrica (SERPA et al., 2003). Além disso, possui uma das madeiras priorizadas como matéria-prima para fabricação de celulose sulfato branqueável, mas também de celulose de alta resistência à tração e ao arrebatamento, fabricação de papéis mais densos e para maior rendimento da celulose depurada e não branqueada (FOELKEL; BARRICHELO; MILANEZ, 1975).

A produção em volume de madeira aos quatro anos é de 103,63 m³ ha⁻¹ e a biomassa é de 89,25 Mg ha⁻¹ em plantios no sul do Brasil (SANTOS et al., 2019). O incremento médio anual (IMA), nessa mesma região, pode variar de 24 até 31 m³ ha⁻¹ aos 36 meses (MORI et al., 1986). Esta espécie é tolerante a geadas e pode suportar temperaturas de até -10 °C em seu local de ocorrência natural (PALUDZYSZYN FILHO; SANTOS; FERREIRA, 2006). Entretanto, é comum a implantações de povoamentos com essa espécie nos estados do sul do Brasil. A seleção de espécies e progênies adaptadas aos diferentes ambientes é importante para aumentar a sobrevivência e melhorias na qualidade da madeira (OLIVEIRA et al., 2015).

As condições que interferem na propagação clonal do *E. saligna* foi pesquisada por alguns autores. As diferentes temperaturas afetam diretamente o enraizamento adventício de miniestacas, e temperaturas mais elevadas promovem incremento nessa variável (CORRÊA E FETT-NETO, 2004). O tempo ótimo de permanência em casa de enraizamento para otimizar o processo pode variar de 20 a 30 dias nesse ambiente (FERREIRA et al., 2004). O uso de estufim sobre o MJC nas quatro estações no sul do Brasil modificam a área foliar das miniestacas, aumentam o enraizamento e a produtividade das minicepas (BATISTA et al., 2015)

4.1.2 *Eucalyptus dunnii* Maiden

Eucalyptus dunnii é reconhecida pelo seu rápido crescimento (GALLO et al., 2018) e qualidade da madeira ideal para uso na produção de celulose e energia (FILHO; SANTOS, 2005). A espécie possui elevado rendimento da polpa (44,4 a 56,6%), elevada densidade da madeira (455-618 kg m³) e baixo teor de lignina, o que promove o menor consumo específico de cloro no processo de branqueamento (FONSECA et al., 2010; HARDNER et al., 2016). De acordo com Santos et al. (2019), a produção volumétrica de madeira aos quatro anos é de 73,96 m³ ha⁻¹ e biomassa de 68,40 Mg ha⁻¹. Na classificação do gênero *Eucalyptus*, o *E. dunnii* pertence a secção Maidenaria, que agrupa as espécies que são cultivadas em regiões temperadas e subtropicais e são recalcitrantes ao enraizamento, dificultando a propagação vegetativa dessa espécie (BRONDANI et al., 2009). O aumento dos plantios de *E. dunnii* na região Sul do Brasil deve-se a sua adaptabilidade às condições climáticas, caracterizada por invernos rigorosos e ocorrência de geadas (GARRETT; CAMARGO; GARCIA, 2018), e também pela adaptação a solos com baixa fertilidade (FILHO; SANTOS, 2005).

Esta espécie já foi estudada por Brondani et al. (2010) e Brondani et al. (2012), que verificaram em três híbridos diferentes respostas para a sobrevivência, enraizamento e produção de miniestacas, concluindo que essas variáveis são sensíveis as variações de temperatura, estações do ano, e que os materiais genéticos responderam de maneiras diferentes. A temperatura ótima para o enraizamento das miniestacas de *E. dunnii* é entre 28 e 33 °C, e a redução da temperatura também promove redução do enraizamento, conseqüentemente, reduzindo o número de mudas produzidas na estação fria (TRUEMAN et al., 2013). A área foliar e produtividade do *E. dunnii* é influenciado pelas estações do ano e ganhos no enraizamento foram observados pelo do estufim (BATISTA et al., 2015).

4.1.3 *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake x *Eucalyptus globulus* Labill

Eucalyptus uroglobulus, híbrido do cruzamento do *E. urophylla* x *E. globulus*, tem o objetivo de melhorar a adaptação às condições climáticas e a multiplicação por meio da propagação vegetativa (ASSIS; MAFIA, 2007). Apresenta produtividade de 100,27 m³ ha⁻¹ em volume de madeira aos quatro anos e 117,52 Mg ha⁻¹ de biomassa (SANTOS et al., 2019). Além disso, é amplamente plantado no Brasil, devido sua adaptabilidade as diversas condições de clima e solo, alta resistência a doenças, ampla diversidade de usos e expressiva densidade básica da madeira (0,500 g cm³) (KULLAN et al., 2012; SILVA; XAVIER, 2006).

O híbrido é amplamente plantado no Chile, sendo usado como matéria-prima para a produção de celulose (GONZALEZ-CANDIA et al., 2016), devido as características físicas,

químicas e anatômicas da madeira ideais para essa finalidade (ALFENAS et al., 2004). Além disso, esse material genético tem excelente rendimento em celulose, alta densidade de madeira e rendimento de polpa, baixo teor de lignina, o que propicia menor consumo de cloro no processo de branqueamento (ASSIS, 2011; FONSECA et al., 2010). Os híbridos de *E. globulus* com outras espécies permitem bons resultados no crescimento e qualidade da madeira para áreas tropicais e subtropicais (ASSIS, 2011; BORGES et al., 2011). Entretanto, apresenta taxa de enraizamento inferior para produção de mudas clonais, devido sua recalcitrância à rizogênese, tornando difícil o enraizamento via propagação vegetativa (ALFENAS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2015).

Pesquisas com a propagação do híbrido *E. uroglobulus* são escassas na literatura. Batista et al. (2015) estudaram o efeito do estufim na produtividade, enraizamento e área foliar desse híbrido, e verificaram que o aumento na temperatura induziu mudanças na morfologia das folhas e promoveu ganhos na produtividade e no enraizamento. Borges et al. (2011) estudaram *E. globulus* e verificaram que miniestacas apicais das minicepas apresentam maiores índices de enraizamento que as intermediárias, e a aplicação de hormônios não promove ganhos no enraizamento, além disso esses clones responderam de maneiras diferentes às características avaliadas.

4.2 FLORESTAS CLONAIAS

A silvicultura clonal permitiu a utilização em grande escala de algumas espécies florestais que possuem características desejáveis no mercado (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). A clonagem do gênero *Eucalyptus* iniciou-se na República Popular do Congo em 1975 (DEWAULLE et al., 1983) e no Brasil no final da década de 70 (CAMPINHOS; IKEMORI, 1983).

O resgate / clonagem de árvores por meio da técnica de estaquia de árvores adultas teve sucesso na década de 70 na Austrália (ALFENAS et al., 2004). Porém, apenas na década de 90 a estaquia foi implementada com o objetivo de otimizar o enraizamento e a qualidade da muda clonal (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

O avanço para o crescimento de florestas clonais foi a necessidade de desenvolver espécies resistente às doenças que afetavam os plantios, além da maior homogeneidade de crescimento, maior rendimento e produtividade (ASSIS, 2011). O ano de 1992 foi marcado pelo maior desenvolvimento da silvicultura clonal de *Eucalyptus*, com a criação da técnica de

micropropagação e seu uso em escala comercial e, posteriormente, da minipropagação (ASSIS; FETT-NETO; ALFENAS, 2004). Dentre as vantagens da miniestaquia, em relação à macroestaquia, estão a manutenção da juvenilidade do material genético, o aumento do enraizamento, as menores áreas para produção de material vegetativo e coleta contínua de propágulos, além do controle das condições ambientais (ASSIS; FETT-NETO; ALFENAS, 2004). Atualmente, a miniestaquia é o método mais utilizado pelos viveiros das empresas do setor florestal brasileiro para a produção de mudas clonais de espécies do gênero *Eucalyptus* (ALFENAS et al., 2009).

4.3 TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE MUDAS CLONAIIS

A propagação vegetativa tem o objetivo de produzir mudas idênticas à planta-mãe, e pode ocorrer a partir do corte de uma parte / órgão vegetal, para posterior enraizamento e brotação, ou uso de sementes sintética (via apomixia). As principais vantagens são: a formação de plantios clonais de alta produtividade e uniformidade, a melhoria da qualidade da madeira e seus produtos, a possibilidade de multiplicar indivíduos resistentes a diversas pragas e doenças e adaptação a sítios específicos. Além disso, a propagação vegetativa pode possibilitar maiores ganhos genéticos que a propagação sexuada (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). Entretanto, algumas desvantagens também são observadas, como a dificuldade de enraizamento em alguns clones e o estreitamento da base genética (WENDLING; DUTRA, 2010).

A estaquia consiste na seleção de árvores matrizes para futuros plantios clonais. Essas árvores selecionadas devem ser superiores em produtividade e qualidade, além de apresentarem resistência a pragas e doenças, atender aos objetivos da produção e serem adaptadas ao local do plantio. Após a seleção, a árvore deve passar pelo corte raso, a fim de que produza brotos juvenis que, posteriormente, serão estaqueados (WENDLING; DUTRA, 2010).

A macroestaquia é limitada devido a menor taxa de enraizamento e baixa qualidade do sistema radicular de alguns clones, além da dificuldade de controle de doenças, fertilização, irrigação e tratos culturas (ALFENAS et al., 2004). Além disso, tem elevada demanda por mão de obra, maior custo devido à necessidade do uso de hormônios para enraizamento e de grandes áreas para implantação do jardim clonal (ASSIS, 2011). Atualmente, essa técnica não é mais usada para fins de produção comercial, mas ainda é muito utilizada para resgate de material genético superior (WENDLING; DUTRA, 2010).

A técnica da miniestaquia segue os mesmos procedimentos da estaquia, porém a fonte de propágulos é a minicepa formada a partir de mudas de material juvenil (JUNIOR; WENDLING, 2003), ou seja, de uma muda muitas vezes produzida de uma miniestaca oriunda de um minijardim clonal. Utiliza menor área para formação dos minijardins e reduz o grau de lignificação dos tecidos. Além disso, aumenta o grau de juvenilidade dos tecidos, melhorando a pré-disposição ao enraizamento e a velocidade da iniciação radicular (ASSIS; ROSA; GONÇALVES, 1992; XAVIER; COMERCIO, 1996). Por sua vez, a maior velocidade de enraizamento reduz o tempo de permanência da muda no viveiro, otimizando o uso das estruturas, e também o tempo de exposição do tecido a doenças e estresse abiótico (ASSIS, 2011). Outra vantagem é a maior qualidade do sistema radicular, sendo este mais responsivo à fertilização (ASSIS, 2011). A capacidade de enraizamento reduz com o envelhecimento ontogenético, observando-se os maiores percentuais de enraizamento no maior nível de juvenilidade dos tecidos, sendo essa característica determinante para o uso dessa técnica (ASSIS, 1992).

4.4 MINIJARDIM CLONAL

O minijardim clonal (MJC) é compreendido como uma área para fins de multiplicação vegetativa composta por um conjunto de minicepas que tem como finalidade fornecer miniestacas para o processo de miniestaquia (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). O MJC é formado por mudas enraizadas que foram propagadas pelo método da estaquia convencional ou pela miniestaquia (SOUZA et al., 2014). A minicepa é formada com o corte do meristema apical da planta após o seu enraizamento, a qual emite brotações (miniestacas) para o enraizamento e formação de mudas em períodos variáveis de acordo com a época do ano, condições estruturais, clone / espécie e condições nutricionais (XAVIER; WENDLING, 1998). Há recomendações para que o MJC seja instalado em canteiros suspensos e sob cobertura de plástico transparente com teto retrátil, com o objetivo de otimizar as condições de luminosidade, minimizar a lixiviação de nutrientes pela chuva, melhorar o controle nutricional, fitossanitário e de proteção contra danos (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

O manejo do MJC clonal é essencial para a qualidade das miniestacas, assim a altura das minicepas deve ser mantida entre 6,0 a 10,0 cm, pois as miniestacas colhidas próximas à base possuem maior potencial rizogênico devido ao maior grau de juvenilidade encontrado na base da planta que é observado em muitas espécies lenhosas (ALFENAS et al., 2004; XAVIER

et al., 2013). As coletas de miniestacas devem ser realizadas em intervalos de 4 a 10 dias, o que dependerá da temperatura, intensidade luminosa e fotoperíodo nas diferentes estações do ano. Desse modo, a minicepa é mantida em bom estado vegetativo e com sistema radicular ativo (ALFENAS et al., 2004). Conforme Xavier, Wendling e Silva (2013) a produtividade das minicepas varia em função da espécie e do clone, sistema e manejo do MJC, condições ambientais e vigor fisiológico das minicepas.

4.5 ESTUFIM

Técnicas que visam a melhoria da qualidade e da quantidade de brotações estão constantemente sendo desenvolvidas. A utilização de minitúnel (miniestufim) sobre o MJC é uma técnica que proporciona melhorias no processo de produção e enraizamento (ASSIS, 2011; BATISTA et al., 2015). Os estufins são constituídos de estrutura metálica em formato de túnel coberto com plástico transparente. O plástico transparente que será usado como cobertura para o MJC irá manter o ambiente de cultivo das minicepas quente e úmido, o que promoverá melhorias na qualidade e na quantidade das miniestacas (ASSIS, 2011).

O uso do estufim envolvendo o MJC promove alterações na temperatura, umidade relativa do ar, irradiância solar e concentração de CO₂ no microambiente próximo ao as minicepas (OLIVEIRA, 2016). Além disso, ocorrem mudanças na morfologia foliar: folhas menores, mais estreitas e coloração mais clara (BATISTA et al., 2015; OLIVEIRA, 2016). O aumento da temperatura e concentração de CO₂ no interior do miniestufim promove maior produtividade e enraizamento das miniestacas (BATISTA et al., 2015; OLIVEIRA, 2016). Dessa forma, monitorar os fatores que são influenciados pelo uso do estufim são importantes para potencializar os ganhos com o uso dessa técnica.

4.6 PROPAGAÇÃO CLONAL PELA ESTAQUIA

A produção de mudas a partir da miniestaquia pode ser dividida em três fases: (i) Produção de miniestaca no MJC, (ii) Indução do enraizamento adventício em MJC em casa de vegetação, sob irrigação via nebulização e temperaturas altas e (iii) Aclimação à sombra, crescimento e rustificação (ALFENAS et al., 2004). A estaquia é um processo para a formação de mudas que impulsiona o desenvolvimento de células vegetais totipotentes, formando um

meristema que irá se diferenciar para formar o sistema radicular adventício (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013). As miniestacas devem manter o vigor, a turgidez e a sanidade após a coleta para que cheguem ao local de estaqueamento em perfeitas condições fisiológicas (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

O envelhecimento ontogenético reduz a capacidade de enraizamento dos propágulos vegetativos. Além disso, propágulos juvenis produzem raízes mais rapidamente e com maior qualidade (TITON; XAVIER, OTONI, 2002; XAVIER et al., 2001). Para alcançar o sucesso no processo de propagação das plantas é fundamental explorar a capacidade de enraizamento, por meio de material juvenil ou pelo rejuvenescimento do material adulto da planta. O rejuvenescimento pode ser compreendido como uma forma de reverter o material que se encontra em estágio adulto em juvenil, explorando a totipotência (HARTMANN et al., 2011; XAVIER; WENDLING; SILVA, 2013).

O enraizamento das miniestacas é um processo anatômico e fisiológico complexo, em que as células vegetais totipotentes se diferenciam para a formação de um meristema que originará as raízes adventícias (BORGES et al., 2011). O enraizamento de miniestacas é influenciado pela juvenilidade do material e tipo de miniestaca (WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014; WENDLING; XAVIER, 2001), genótipo (BRONDANI et al., 2012), interações com o ambiente (temperatura, luminosidade e umidade) (BRONDANI et al., 2012; HARTMANN et al., 2011), concentração de hormônios (BRYANT; TRUEMAN, 2015), substrato e nutrição mineral (CUNHA et al., 2009b). Além disso, de acordo com Cunha et al. (2009a), o conhecimento e monitoramento dos fatores que afetam a indução e a produção de raízes é determinante para o sucesso na produção de mudas via propagação vegetativa.

A formação de raízes adventícias pode ocorrer de forma direta quando as raízes são emitidas diretamente das células cambiais meristemáticas, ou indiretamente por meio da formação de calos (FILHO, 1993). Alguns métodos para a propagação clonal dos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia*, como a embriogênese somática e a organogênese, podem ser realizados de maneira indireta pela indução de calos (TRUEMAN; HUNG; WENDLING, 2018). O calo compreende um conjunto de células com crescimento desordenado, que forma um tecido com alto grau de diferenciação e elevada competência para formação de raízes e gemas adventícias (ROCHA, QUOIRIN, 2004). No entanto, o processo de calogênese não é essencial para a formação de raízes adventícias (OLIVEIRA et al., 2015), mas a formação de calos e raízes pode ocorrer simultaneamente (ARTECA, 1996) e muitas vezes formam-se calos na base da miniestaca, não ocorrendo a formação da raiz ou formando um sistema radicular de baixa qualidade (SOUZA; PEREIRA, 2007). As raízes adventícias contribuem para a sobrevivência

das plantas no campo, resistência ao vento, absorção de água e nutrientes, e à produção de maior volume de madeira (MOKOTEDI; WATT; PAMMENTER, 2010).

4.7 VARIÁVEIS AMBIENTAIS

As variáveis ambientais como temperatura, umidade relativa do ar (UR%), déficit de pressão de saturação do vapor d'água no ar (DPV) e luminosidade também influenciam na fisiologia da planta produtora de propágulos e na qualidade das miniestacas (OLIVEIRA, 2016).

A temperatura influencia na integridade das membranas dos cloroplastos e nas reações de fixação do carbono da fotossíntese (TAIZ et al., 2017). O aumento da temperatura favorece o processo de divisão celular, sendo que o mesmo é acelerado e, desse modo ocorre a produção de brotação e formação de raízes (HARTMANN et al., 2011). Assim, a elevação da temperatura, até certo grau, está relacionado com a maior produtividade ocasionada pelo maior crescimento vegetativo (WENDLING; XAVIER; TITON, 1999). Entretanto, temperaturas elevadas, até o ideal para a planta, aumentam a cinética da rubisco, assim as taxas de oxigenação são maiores que as de carboxilação, reduzindo a solubilidade do CO₂ em relação ao O₂, gerando maior gasto energético para a planta (DAMATTA et al., 2010; TAIZ et al., 2017), bem como produzem maior quantidade de EROS.

Em algumas espécies de *Eucalyptus*, verificou-se que o aumento da temperatura devido ao uso do estufim aumentou a produtividade do MJC (BATISTA et al., 2015). Oliveira (2016) destaca que além da temperatura, o maior déficit de pressão de saturação do vapor d'água no ar favorece a produção de miniestacas com o uso de estufins. Nesse sentido, Cunha et al. (2009a) também observaram produção de miniestacas de *Eucalyptus* direta e positivamente relacionada a temperatura do ar no MJC.

O déficit de pressão e saturação de vapor d'água no ar tem interferência no rendimento fotossintético da planta, na evapotranspiração e abertura e fechamento estomático (OLIVEIRA, 2016; MONTEIRO, 2009). Quando a planta é cultivada em ambiente com disponibilidade hídrica adequada, a redução do déficit de pressão de vapor d'água induz a abertura estomática, favorecendo as trocas gasosas e a fixação de carbono (MONTEIRO, 2009). O déficit de pressão e saturação de vapor d'água no ar está diretamente relacionado com a umidade relativa do ar e a temperatura (TETENS, 1930), pois se a umidade relativa do ar for baixa e a temperatura elevada, a planta aumentará a transpiração até o limite em que fechará os estômatos, reduzindo

a fotossíntese. Quando ocorre o déficit hídrico os estômatos da planta se fecham, desse modo há redução da taxa fotossintética e no crescimento (SCALON et al., 2011).

A luz é a fonte primária de energia para as células vegetais e iniciarem o processo da fotossíntese e é um dos fatores ligados diretamente ao crescimento e o desenvolvimento dos vegetais (TAIZ et al., 2017). Altos níveis de radiação solar podem levar ao fechamento estomático das plantas, reduzindo a transpiração além de induzirem a fotorrespiração (BAILLE; LAURY; BAILLE, 1994). As malhas metalizadas por alumínio (frequentemente usadas em casa de vegetação) promovem a conservação de energia no ambiente, a reflexão de parte da energia solar, que tem como consequência temperaturas menores no verão e maiores no inverno, além de agirem como uma proteção contra geadas (GUISELINI et al., 1992). É importante destacar que no sul do Brasil as mudanças de estações também promovem mudanças no fotoperíodo, sendo que o inverno tem menor fotoperíodo que o verão.

O aumento da abertura estomática é a condição adequada para a maior assimilação de CO₂, pois é através da abertura estomática que ocorre o influxo do CO₂ para o mesófilo foliar, necessário para o processo fotossintético e crescimento das plantas (TAIZ et al., 2017). A redução da condutância estomática ocorre com o fechamento dos estômatos, e pode ser provocada por temperaturas elevadas, déficit de pressão de saturação do vapor d'água no ar, altas intensidades luminosas e baixa umidade relativa do ar (TATAGIBA et al., 2007).

4.8 ATRIBUTOS ANATÔMICOS E MORFOLÓGICOS

As folhas apresentam ampla diversidade morfológica entre as espécies vegetais e são responsáveis por exercer três funções básicas que ocorrem no mesófilo foliar: fotossíntese, transporte de material assimilado e evaporação de água (CUTLER; BOTHA; STEVENSON, 2011).

A folha é composta por três camadas de tecidos: dérmico, fundamental e vascular (feixe). A grande maioria das plantas apresenta folha achatada com duas superfícies, adaxial (superior) e abaxial (inferior). A epiderme é um tecido contínuo em toda extensão da folha e pode variar entre as espécies. O mesófilo, tecido localizado entre o feixe vascular e a epiderme, compreende o parênquima que está diferenciado em tecido fotossintetizante contendo cloroplastos. A folha onde o parênquima paliçádico está de um lado e o parênquima esponjoso do outro é uma folha dorsiventral. A eficiência da fotossíntese deve-se a especialização do sistema paliçádico, local onde se encontram a maioria dos cloroplastos dispersos paralelamente

à parede celular, otimizando a eficiência da absorção de luz. Os espaços presentes no parênquima esponjoso facilitam as trocas gasosas por entrarem em contato com o ar atmosférico (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006). As terminações das nervuras têm a função de transportar água e solutos dissolvidos na corrente respiratória e absorver e translocar produtos da fotossíntese para outras partes da planta (APPEZZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERREIRO, 2006).

As diferentes condições ambientais as quais as plantas estão submetidas influenciam diretamente na sua anatomia (LIMA, 2004), as alterações na morfologia foliar podem modificar os processos metabólicos e fisiológicos, como a fotossíntese e a transpiração (ABBADÉ et al., 2009). A anatomia da folha especializada para a absorção de luz e as propriedades do mesófilo e, principalmente do parênquima esponjoso, otimizam a absorção da luz (CASTRO et al., 2007). Desse modo, compreender a estrutura foliar de uma planta é fundamental para conhecer suas mudanças adaptativas (CASTRO, 2002).

A qualidade do desenvolvimento e crescimento das plantas pode ser avaliada por avaliações morfológicas e fisiológicas (GOMES; PAIVA, 2011). Os atributos morfológicos são facilmente mensurados no viveiro e no campo, e dentre as principais avaliações, podemos citar a mensuração da altura e do diâmetro do coleto (TSAKALDIMI; GANATSAS; JACOBS, 2013).

A altura das mudas está relacionada com o número de folhas e pode estimar a capacidade fotossintética, desse modo, mudas mais altas apresentam vantagens em relação as mudas com menores alturas em ambientes com boa disponibilidade hídrica (RITCHIE et al., 2010). A mensuração da altura é um dos atributos mais utilizados para caracterizar as mudas em viveiro, entretanto, não deve ser o único atributo utilizado para indicar a qualidade das morfológica (GOMES; PAIVA, 2011). O diâmetro do coleto qualifica as mudas aptas para o plantio no campo e relaciona-se com o índice de sobrevivência e crescimento inicial de mudas após o plantio. Para o plantio no campo recomenda-se mudas com diâmetro acima de 2,0 mm (GOMES; PAIVA, 2011; KRATZ, 2011).

A massa seca e a área foliar da planta fornecem informações relevantes sobre o seu desenvolvimento, pois representam o produto do processo fotossintético (ARAÚJO et al., 2018). A massa seca da parte aérea indica a rusticidade das mudas (GOMES; PAIVA, 2011). A massa seca radicular é um atributo relevante, pois as raízes são responsáveis pela absorção de água e nutrientes que promoverão o desenvolvimento da parte aérea, aumentando a sobrevivência no campo.

Os estômatos são importantes na fixação de carbono durante o ciclo de Calvin-Benson da fotossíntese, pois, é necessário a fixação do CO₂ da atmosfera para que ocorra a síntese de sacarose e amido, mas também para a regulação da perda de água pela planta (TAIZ et al., 2017). A quantificação da distribuição dos estômatos na folha é importante para a investigação das respostas das plantas as alterações ambientais (CASSON; GRAY, 2008). Além disso, as variações na temperatura e na concentração de CO₂ também influenciam na densidade estomática (BROWNLEE, 2001).

4.9 ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS

A avaliação de alterações no metabolismo da planta pode ser realizada por meio de atributos fisiológicos (CAMPOE et al., 2014). Mensurar o teor de clorofila *a*, *b* e carotenoides, enzimas antioxidantes e fluorescência da clorofila *a* fornecem informações em relação ao dano provocado no aparato fotossintético em relação ao ambiente no qual a planta está cultivada (BAKER, 2008).

4.9.1 Pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos (clorofila *a* e clorofila *b*) são responsáveis pela absorção de luz necessária para a realização da fotossíntese. Esses absorvem a luz em regiões específicas do espectro (STREIT et al., 2005) e de forma geral, quanto maior seu teor na planta maior será a eficiência na absorção e transferência de energia para os processos fotossintéticos (TAIZ et al., 2017). A fotossíntese ocorre nos cloroplastos das células vegetais, por meio de reações fotoquímicas e bioquímicas (TAIZ et al., 2017).

A clorofila *a* é o pigmento necessário para a produção de oxigênio durante o processo fotossintético, enquanto a clorofila *b* pode ser definida como um pigmento que amplia a faixa de luz que pode ser usada na fotossíntese, pois transfere a luz absorvida para a clorofila *a* que fará a transformação em energia química (TAIZ et al., 2017). Os carotenoides são pigmentos acessórios que absorvem radiação em outra região do espectro e transferem essa energia absorvida para a clorofila *a*, porém a sua principal função é atuar como antioxidante para prevenir danos oxidativos às moléculas de clorofila (TAIZ et al., 2017).

A fotossíntese ocorre nos cloroplastos, no sistema interno de membranas denominado de tilacóides. Estes abrigam o aparato fotossintético, compreendido pelo complexo antena e

pelos centros de reação dos fotossistemas I e II. Os pigmentos (clorofila *a*, *b* e carotenoides) do complexo antena absorvem a energia dos fótons que é transferida para os centros de reação dos fotossistemas, onde ocorrem as reações fotoquímicas. Nesse processo é que ocorre a produção de NADPH e ATP que serão utilizadas para assimilar o carbono no ciclo de Calvin-Benson. A energia, além de ser usada nas reações fotoquímicas e da transferência entre os pigmentos, também pode ser dissipada por fluorescência da clorofila *a* e pela dissipação termal de energia (TAIZ et al., 2017)

4.9.2 Espécies reativas de oxigênio e enzimas antioxidantes

Nos processos de transferência de elétrons, as espécies reativas de oxigênio (EROS) formam-se naturalmente na planta durante a fotossíntese e a respiração (FERREIRA et al., 2015). Entretanto, o estresse oxidativo é provocado quando a produção de EROS na planta é superior à atividade do sistema antioxidante, podendo caracterizar estresses provocados por fatores bióticos e abióticos (TABALDI, 2008). O aumento na produção de EROS pode provocar danos nas membranas celulares, peroxidação de proteínas e danos ao DNA no processo de divisão celular quando as bases nitrogenadas ficam expostas (TAIZ et al., 2017). A enzima da família superóxido dismutase (SOD) é a primeira frente de defesa do sistema oxidativo, pois, degrada o radical O_2^- , gerando como produto o H_2O_2 (ALSCHER; ERTURK; HEATH, 2002). O H_2O_2 é menos tóxico às plantas que o O_2^- , porém o seu excesso também pode causar toxidez às plantas. Desse modo, as enzimas catalase (CAT) e as peroxidases (POD) devem aumentar sua atividade para eliminar o H_2O_2 . Assim, a quantificação da produção de EROS e da atividade do sistema antioxidante enzimático é importante para a detecção de estresses em plantas em diferentes manejos de produção, assim como para a seleção de espécies / clones mais tolerantes a estresses abióticos.

4.9.3 Fluorescência da clorofila *a*

O processo de fotossíntese realizada pelas plantas converte a energia luminosa absorvida do sol em energia química. De toda a energia absorvida parte é utilizada para a via fotoquímica, e o excesso é dissipado na forma de calor ou por fluorescência (TAIZ et al., 2017). A variação da emissão de fluorescência da clorofila *a* se relaciona ao estado reducional do aparato fotossintético, que sofre alterações de acordo com as mudanças nas magnitudes das vias

fotoquímicas e não fotoquímicas. Quando a maioria dos centros de reação do fotossistema II estão oxidados ou abertos para o transporte de elétrons, a via fotoquímica é máxima. Entretanto, quando a intensidade luminosa é maior que aquela que pode ser usada de forma eficiente pela via fotoquímica ocorre aumento no número de centros de reação que se encontram reduzidos ou fechados para dissipação termal da energia. O aumento na via não-fotoquímica ajuda a proteger o aparato fotossintético de eventuais danos que podem vir a ser causado pela maior intensidade luminosa e também estar relacionado com a produção de espécies reativas de oxigênio (PRADO; CASALI, 2006).

O aparato fotossintético de uma planta, na ausência de luz, encontra-se totalmente oxidado, possibilitando a mensuração da fluorescência inicial (F_0). Os níveis máximos de fluorescência (F_m) no escuro são obtidos com a exposição da planta a um pulso de luz que irá promover o fechamento temporário de todos os centros de reação dos fotossistemas, provocando a eliminação da via fotoquímica. Na presença de luz, o rendimento do fotossistema II atinge valores estáveis após determinado período de exposição e ativação das enzimas do ciclo de Calvin (PRADO; CASALI, 2006). A fluorescência variável (F_v) é a diferença entre a fluorescência inicial (F_0) e a fluorescência máxima (F_m).

A eficiência da via fotoquímica do fotossistema II (FSII) estima a proporção da energia luminosa usada pela via fotoquímica, a extinção fotoquímica (q_p) corresponde a proporção dos centros de reação do fotossistema II que permanecem abertos. Esses dois parâmetros geram a relação F_v/F_m que estima a eficiência máxima do fotossistema II, ou seja, o rendimento quântico quando todos os centros de reação do fotossistema II estão abertos (PRADO; CASALI, 2006). O q_p e F_v/F_m fornecem informações sobre processos que podem estar provocando declínios na conversão da energia luminosa em energia química (TAIZ et al., 2017).

A relação F_v/F_m é uma estimativa da eficiência quântica máxima da atividade fotoquímica do FSII, quando todos os centros de reação do FSII estão abertos (BAKER; ROSENQVIST, 2004). Frequentemente, tem sido usada para detectar alterações no sistema fotossintético provocado por estresses abióticos e bióticos, pois sua redução indica inibição da atividade fotossintética (KONRAD et al., 2005). A relação F_v/F_m é muito utilizada para detectar a fotoinibição da fotossíntese. Em plantas não submetidas a estresses ambientais os valores máximos encontrados estão por volta de 0,83 (BJÖRKMAN; DEMMIG, 1987). A razão F_v/F_0 também é um parâmetro utilizado para representar o estado fotoquímico das folhas das plantas ou estresses provocados pelo ambiente (ZANANDREA et al., 2006). Essa relação também pode ser usada para indicar a eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII ou da atividade fotossintética potencial (razão máxima de produção quântica dos processos concorrentes

fotoquímicos e não fotoquímicos do FSII) e apresentam valores entre 4 e 6 (ZANANDREA et al., 2006). Desse modo, o uso dos dois parâmetros complementa a compreensão da eficiência máxima do processo fotoquímico.

O estresse é provocado quando a luz é absorvida pela clorofila, mas não é aproveitada na via fotoquímica. Quando a planta absorve luz, as clorofilas são excitadas tornando-se altamente reativas e se não receberem uma atenuação do seu estado estimulado, tornam-se uma fonte que ocasiona estresse oxidativo. A clorofila não para de absorver luz, então o excesso deve ser dissipado. A dissipação (*quenching*) pode ocorrer na forma de calor pelo ciclo das xantofilas provocando aumento do $Y_{(NPQ)}$, o excesso também pode ser direcionado para a fotossíntese, incrementando o $Y_{(II)}$ ou por meio da dissipação por fluorescência não-fotoquímica, $Y_{(NO)}$ (CHAVES, 2005).

As alterações no *quenching* fotoquímico ($Y_{(II)}$) e não-fotoquímico ($Y_{(NPQ)}$) influenciam na fotoproteção pelo ciclo das xantofilas que alteram o pH da membrana dos tilacóides (GOLAN et al., 2015). O decréscimo de $Y_{(II)}$ e aumento do $Y_{(NO)}$ resultam em queda das taxas fotossintéticas (FRANZEN et al., 2007). O *quenching* pode ser compreendido como qualquer decréscimo na via fotoquímica (qP), dissipação da energia pela fluorescência da clorofila *a*, ou pela via não-fotoquímica (qN) (CAMPOSTRINI, 2001). As mudanças em qP são rápidas, enquanto em qN lentas, sendo essa diferença a base da separação dos *quenching's* (BRADBURY; BAKER, 1981).

A extinção fotoquímica (qP) é iniciada em função do aumento dos elétrons exportados do FSII, pela ativação de enzimas envolvidas no metabolismo do carbono e na abertura estomática. Ao mesmo tempo ocorre aumento da extinção por meio da via não-fotoquímica (NPQ) (BAKER; ROSENQVIST, 2004). Reduções na fração luminosa dissipada fotoquimicamente (qP) pode ser interpretada como aumento de Q_A (plastoquinona A) que representam uma fração dos centros de reação do FSII que são propensos a sofrer fotoinibição por danos (PEREZ, 2013). O qP representa a fração 'aberta' do FSII em relação ao total desse sistema (KAUSE; WEIS, 1991). A extinção não-fotoquímica (qN) representa o decréscimo do rendimento quântico da fluorescência associado a dissipação termal da energia de excitação (POSPISIL, 1998).

5 METODOLOGIA

5.1 INSTALAÇÃO DO MINIJARDIM CLONAL (MJC)

O MJC foi instalado em 20 de julho de 2017 no Horto Florestal Barba Negra da Empresa Celulose Riograndense (CMPC), localizado em Barra do Ribeiro, RS. O MJC foi instalado dentro de uma área coberta (casa de vegetação) com teto e laterais retráteis. O MJC foi constituído sobre canaletão com plantio em areia, sendo composto por três clones: *E. saligna*, *E. dunnii* e o híbrido de *E. urophylla* x *E. globulus* (*E. uroglobulus*). O minitúnel foi construído sobre uma estrutura metálica, recoberta com filme plástico transparente, de 10,0 m x 1,0 m x 0,6 m (comprimento, largura e altura) (APÊNDICE A). No inverno (junho a setembro), o teto retrátil da casa de vegetação era aberto em dias ensolarados durante a manhã e o minitúnel era aberto aproximadamente às 09:00 horas e fechado às 16:00 horas.

A irrigação no minijardim foi realizada por gotejamento, sendo acionado de três a quatro vezes ao dia, dependendo da temperatura e umidade relativa diária (BATISTA et al., 2015). A solução nutritiva aplicada no minijardim pode ser observada na Tabela 1. A aplicação compreendeu 5 L m⁻² dia⁻¹ de solução nutritiva, com condutividade elétrica mantida a 1,8 mS m⁻².

Tabela 1 - Composição da solução nutritiva aplicada no MJC do Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Fertilizante adicionado	Dosagem (mg L⁻¹)
Nitrato de cálcio	367,5
Fosfato de monoamônio	60,2
Cloreto de potássio	239,4
Sulfato de magnésio	113,6
Quelato de ferro	5,0
Boro orgânico	0,5
Sulfato de manganês	1,8
Cobre	0,15
Sulfato de zinco	0,25

Fonte: Empresa CMPC Celulose Riograndense (2018).

As práticas realizadas no MJC, desde o plantio de minicepas, manejo do minijardim (irrigação e adubação) e avaliações da sobrevivência e enraizamento das estacas seguiram o procedimento padrão adotado pela Empresa.

5.2 TRATAMENTOS

Os tratamentos foram compostos por três clones do gênero *Eucalyptus* e dois manejos do MJC. Os clones utilizados foram *E. saligna*, *E. dunnii* e *E. urophylla* x *E. globulus* (*E. uroglobulus*). O manejo do MJC compreendeu o uso do estufim e ausência do estufim (APÊNDICE B). O experimento foi implantado em delineamento blocos ao acaso, em esquema bifatorial 2 x 3 (manejo de MJC x clone), com parcelas subdivididas, onde os dois tipos de manejo do minijardim ocuparam a parcela principal e os três clones foram distribuídos nas subparcelas. Cada tratamento foi composto por seis repetições de 72 plantas no espaçamento de 10 cm x 11 cm, distribuídas na configuração de 8 x 9, totalizando 432 minicepas por tratamento. As avaliações foram realizadas no período de inverno, de 21 de junho até 23 de setembro de 2018, quando as minicepas já tinham um ano de plantio e condução.

5.3 VARIÁVEIS AMBIENTAIS ANALISADAS NO MJC

5.3.1 Monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar nos minijardins clonais

A temperatura (°C) e a umidade relativa do ar (UR%), durante o período de estudo no MJC com e sem estufim foi monitorada com dois termohigrômetros (Datalogger - AK174). A partir dos valores de temperatura e umidade relativa do ar calculou-se o déficit de saturação do vapor de água no ar (DPV) (Mpa) com a seguinte fórmula (TETENS, 1930):

$$DPV = \left(0,6108 \exp^{\frac{17,27 t}{237,3+t}} \right) - \left(\frac{0,6108 \exp^{\frac{17,27 t}{237,3+t}}}{100} \right) * UR$$

Sendo: DPV = déficit de pressão de saturação de vapor de água no ar (kPa); t: temperatura do ar (°C); UR = umidade relativa do ar (%).

Os valores do monitoramento da temperatura, umidade relativa e déficit de saturação de água no ar foram apresentados em intervalos de 10 dias a partir do início do inverno.

Realizou-se a medição da intensidade luminosa, entre 11:00h e 13:00h, com dois luxímetros digitais (Minipa®) para caracterizar a intensidade de luz que incidiu nas minicepas durante o período de estudo nos dois manejos de MJC. Em pleno sol a radiação

fotossinteticamente ativa foi de $811 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e na casa de vegetação (com cobertura de plástico e Aluminete®) a intensidade luminosa foi reduzida em 46% (MJC sem estufim) e no MJC com estufim a redução foi de 56%. No verão a intensidade luminosa foi de $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em pleno sol.

5.4 VARIÁVEIS ANALISADAS NAS MINICEPAS

5.4.1 Avaliações de atributos anatômicos e morfológicos nas minicepas

A avaliações anatômica consistiu da mensuração da espessura do parênquima paliçádico, do parênquima esponjoso, da face abaxial e adaxial da epiderme e da espessura do limbo da folha. O primeiro par de folhas expandidas das brotações das minicepas foi coletado e após fixadas em FAA 70 (ácido acético glacial, formalina, etanol e água destilada) (JOHANSEN, 1940) permanecendo nessa solução por 48 horas. Após, as folhas foram desidratadas em etanol 70%, e mantidas nesta concentração até o momento das avaliações e inclusão em historesina (O'BRIEN; MC CULLY, 1981). A caracterização anatômica foi realizada em secções transversais das folhas que foram obtidas na região mediana, em uma folha por tratamento. Para as secções transversais foram padronizadas amostras da nervura principal e da margem da folha com espessura de cerca de 3,0 mm. Posteriormente, as amostras foram submetidas ao processo de inclusão em historesina (glicol metacrilato) e após a secagem, os blocos de resina foram seccionados em micrótomo de rotação com espessura de 12 μm . A coloração das lâminas foi feita com azul de toluidina (0,05%) (SIDMAN et al., 1961). As lâminas foram examinadas em microscópio óptico (Zeiss ®) com câmera digital e micrometro acoplado. As imagens foram documentadas pelo software Zen Lite (v. 2012).

Os atributos morfológicos avaliados foram área foliar (AF), contagem do número de folhas (NF), densidade estomática (NE) e massa seca da parte aérea (MSPA). Essas variáveis foram determinadas em uma minicepa por repetição.

A área foliar foi determinada com a disposição de todas as folhas sobre papel A4 e, com auxílio de uma câmera digital, após a imagem com escala foi processada no software ImageJ. A densidade estomática na face adaxial foi determinada a partir de metodologia descrita em Prado e Casali (2006). Os moldes foram confeccionados sobre lâminas com o uso de cola instantânea (cianocrilato) sem a retirada da folha da planta. A contagem de estômatos foi

realizada com o uso de microscópio óptico. A massa seca da parte aérea foi mensurada após a secagem em estufa de ar forçado a 65 °C até peso constante e, posteriormente, o material foi pesado em balança analítica.

5.4.2 Avaliações de atributos fisiológicos nas minicepas

Os atributos fisiológicos do MJC avaliados foram a atividade das enzimas antioxidantes (SOD e POD) e o estresse oxidativo (H₂O₂). As análises foram determinadas em uma amostra por repetição, que foi composta por folhas coletadas nas minicepas centrais das repetições, totalizando seis repetições/tratamento. Essas foram colocadas em envelopes de papel alumínio e imediatamente congeladas em N₂ líquido, até que pudessem ser armazenadas em ultrafreezer a -80 °C, e posterior análises.

5.4.2.1 Pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *b* (Chl *b*), clorofila total (Chl total) e carotenoides foram quantificados seguindo a metodologia de Hiscox e Israelstam (1979). Amostras frescas de folhas (0,05 g), mantidas em ultrafreezer, foram incubadas a 65 °C com dimetilsulfóxido (DMSO) por duas horas e após foi realizada a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro (Celm E-205D), nos comprimentos de onda 663, 645 e 470 nm para estimar o teor de Chl *a*, Chl *b* e carotenoides. As médias foram estimadas utilizando a fórmula de Lichtenthaler (1987). A relação clorofila *a/b* foi estimada com a divisão do teor de Chl *a*/Chl *b*. O teor de proteínas foi determinado com metodologia de Bradford (1976).

5.4.2.2 Enzimas SOD e POD

Amostras de folhas (0,5 g) armazenadas no ultrafreezer foram retiradas e homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8) 0,05 M, contendo 1 mM de EDTA e 2% (m/v) de polivinilpirrolidona (PVPP). Após, o homogeneizado foi colocado em centrífuga refrigerada (13.000 rpm x g por 15 minutos, a 4 °C) e o sobrenadante utilizado para a determinação da atividade das enzimas (ZHU et al., 2004).

A atividade da enzima guaiacol peroxidase (POD) foi determinada segundo metodologia descrita em Zeraik et al. (2008), utilizando-se o guaiacol como substrato. Foi

adicionado nas amostras (50 μL): 1 mL de tampão fosfato (0,1M, pH 6,5), 1 mL de guaiacol (15 nM), 1 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (3 nM). Após, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (Celm E-205D) a 470 nm. Os resultados foram expressos em unidade de enzima por mg de proteína (U mg^{-1} proteína). Para o cálculo, utilizou-se o coeficiente de extinção molar de $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com o método espectrofotométrico, descrito em Giannopolitis e Ries (1977). Para análise foi misturado 50 μL de amostra vegetal com 2,950 mL de tampão de leitura (fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), metionina (13 mM), EDTA (0,1 μM), NBT (75 μM) e Riboflavina (2 μM)). Após, os tubos foram iluminados dentro de uma caixa fechada com 15 watts de luz fluorescente, por 15 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Celm E-205D) a 560 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima que inibe a fotoredução do NBT em 50% (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

5.4.2.3 *Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2)*

Na determinação de espécies reativas de oxigênio (EROS), o conteúdo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foi avaliado de acordo com Loreto e Velikova (2001), utilizando-se 0,3 g de amostras de folhas homogeneizadas em 3 mL de 0,1% de ácido tricloroacético (m/v) após, o homogeneizado foi centrifugado a $12.000 \times g$ por 10 minutos a 4°C . Posteriormente, 0,5 mL do sobrenadante foi adicionado em 10 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,0) e 1 mL de KI (1 M). A concentração de H_2O_2 do sobrenadante foi avaliada comparando suas absorvâncias a 390 nm com uma curva padrão de calibração. A concentração de H_2O_2 foi expressa como $\mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco.

5.4.2.4 *Fluorescência da clorofila a*

A fluorescência da clorofila *a* foi avaliada em uma minicepa por repetição na metade da estação. A determinação foi realizada utilizando um fluorômetro portátil (Junior-Pam Chlorophyll Fluorometer Walz) em folhas completamente expandidas. Realizou-se as avaliações em duas ocasiões em dias totalmente ensolarados, no período da manhã (8:00 -11:00 horas).

As folhas selecionadas foram aclimatadas por 30 minutos ao escuro com uso de papel alumínio (APÊNDICE C). Após, as mesmas foram expostas a pulsos de luz saturada com comprimento de onda induzida pela luz vermelha (pico em 650 nm) de, aproximadamente, $3.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo obtidos os sinais de fluorescência inicial (F_o), fluorescência máxima (F_m), eficiência fotoquímica máxima do fotossistema II (F_v/F_m ; F_v/F_o), taxa máxima de transporte de elétrons (ETR_m), dissipação (*quenching*) fotoquímica [$Y_{(\text{NO})}$], dissipação não-fotoquímica [$Y_{(\text{NPQ})}$], rendimento quântico efetivo do FSII [$Y_{(\text{II})}$], coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica para os fotossistemas separados (qP), parâmetro do coeficiente de extinção de fluorescência não-fotoquímica (qN) e coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica (qL).

5.4.3 Controle da produtividade

A produtividade das minicepas foi monitorada durante toda a estação com a contagem do número de estacas/repetição em cada coleta, sendo consideradas na contagem todas as estacas com padrão de coletas para estaqueamento (2-3 pares de folhas e cerca de 8-11 cm de altura). A coleta das miniestacas do MJC foi realizada em intervalos de aproximadamente 15 dias, ou quando as estacas estavam no padrão ideal para o estaqueamento (APÊNDICE D). Para a determinação da produção do MJC também foi realizada a contagem do número de minicepas por repetição.

5.5 AVALIAÇÃO DAS ESTACAS

5.5.1 Sobrevivência e enraizamento das estacas

Durante o inverno de 2018, foram coletadas miniestacas produzidas pelas minicepas dos dois sistemas de manejo de MJC. As miniestacas tiveram redução da área foliar em 50% e foram depositadas em caixa de isopor para evitar a perda da turgescência das células e transferidas para a casa de estaqueamento. As miniestacas foram estaqueadas em recipientes de polipropileno de 50 cm^3 preenchidos com substrato Carolina Soil® e adubadas com fertilizante de liberação controlada na dose padrão da empresa. Para evitar a desidratação das miniestacas durante o estaqueamento foi acionada a irrigação por nebulização.

Após o estaqueamento as bandejas foram transferidas para a casa de vegetação (enraizamento) onde permaneceram por 40 dias com irrigação realizada pelo sistema de nebulização de 30 segundos em intervalos definidos pela condição ambiental diária (APÊNDICE E). Aos 30 dias após o estaqueamento realizou-se a avaliação da sobrevivência. Foram consideradas vivas as miniestacas que se encontravam verdes e turgidas. A porcentagem de miniestacas sobreviventes (SOB%) foi determinada por meio da seguinte equação:

$$SOB (\%) = \frac{(NEE * 100)}{NES}$$

Sendo: SOB (%): Sobrevivência das miniestacas (%); NEE: número de miniestacas estaqueadas; NES: número de miniestacas sobreviventes.

Após esse período, as miniestacas foram transferidas para a casa de vegetação sob sombreamento para aclimação, onde a frequência de irrigação foi reduzida, porém a vazão da irrigação foi aumentada e programada de acordo com as condições de temperatura e umidade relativa do ar. Aos 45 dias após o estaqueamento, antes da saída das mudas para fase de crescimento em pleno sol, foram avaliadas as miniestacas enraizadas por meio da emissão de raízes e sua visualização na parte inferior do recipiente. A porcentagem de miniestacas enraizadas (ENR%) foi determinada por meio da seguinte equação:

$$ENR (\%) = \frac{(NEE * 100)}{NER}$$

Sendo: ENR (%): Enraizamento das miniestacas (%); NEE: número de miniestacas estaqueadas; NER: número de miniestacas enraizadas.

5.5.2 Avaliações dos atributos morfológicos das mudas

As avaliações dos atributos morfológicos das mudas foram realizadas aos 90 dias após o estaqueamento (APÊNDICE F). Nas mudas foi medida a altura, com auxílio de régua graduada, e mesurado o diâmetro do colo, com paquímetro digital (APÊNDICE G).

Além disso, as mudas foram transportadas para o Laboratório de Silvicultura e Viveiro Florestal da UFSM para determinação da massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca radicular (MSR) e total (MST). A parte aérea da muda foi separada da radicular com um corte na região do colo, próximo do substrato. A parte aérea foi acondicionada em sacos de papel,

devidamente identificados. A parte radicular foi lavada em água corrente com auxílio de peneira de malha de 2,0 mm para remoção do substrato aderido e após colocadas em sacos de papel identificados. O material foi levado para secagem em estufa com circulação forçada de ar forçado a 65 °C até peso constante, para posterior determinação da MSPA e MSR. Após foi determinada a MST com a soma da MSPA e MSR.

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram verificados quanto às pressuposições de normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias, pelo teste de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. A variável qP não atendeu aos pressupostos e realizou-se a transformação dos dados com: $x^{4.3}$. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise estatística, composta de dois fatores, manejo do MJC (fator A) e clones (fator B), quando verificada interação entre os fatores, efetuou-se o desdobramento das interações, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico “ExpDes.pt” do software R (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2018).

As médias das variáveis analisadas foram submetidas à uma análise de componentes principais (ACP), com o uso dos pacotes Factoextra e FactoMineR do R. Essa avaliação tem como objetivo encontrar os pesos de cada variável para maximizar a variância entre os pontos de amostragem (ORTEGA et al., 1999). A ACP encontra um conjunto de combinações lineares padronizadas denominadas componentes principais (PC), que são ortogonais e, em conjunto, explicam a variância dos dados originais.

6 RESULTADOS

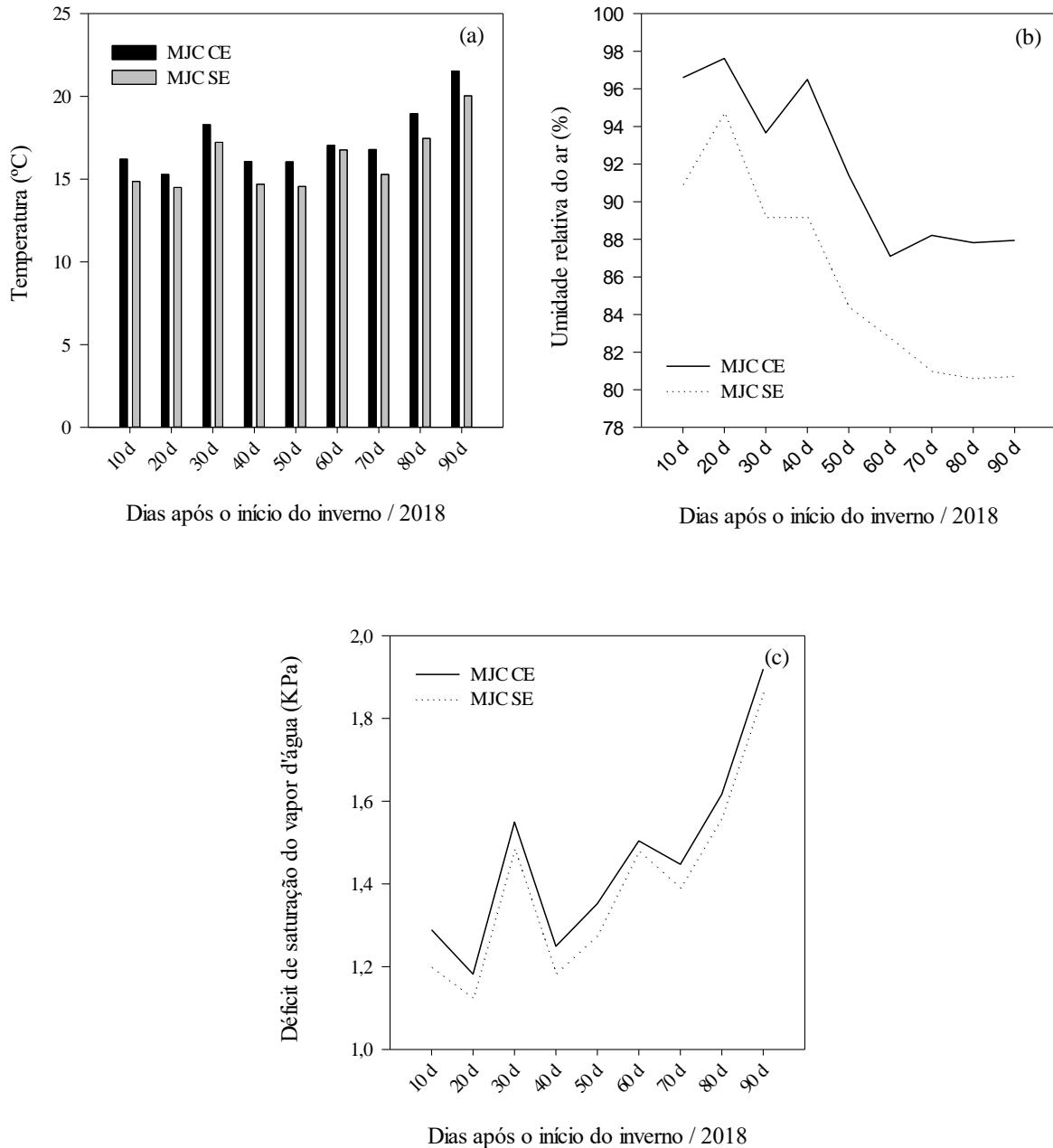
6.1 TEMPERATURA MÉDIA, UMIDADE RELATIVA E DÉFICIT DE SATURAÇÃO DO VAPOR D'ÁGUA

O uso do estufim promoveu aumento na temperatura média no MJC de 11,5% em relação ao manejo do MJC sem o uso do estufim. A UR% aumentou 7,5% e o DPV 5% no MJC com o uso do estufim (Figura 1).

A temperatura média observada no MJC com estufim foi de 17,4 °C, sendo a mínima para o período de 6,3 °C e a máxima 42,7 °C. O MJC sem estufim teve a temperatura média de 15,5 °C, a mínima de 6,2 °C e a máxima de 34,4°C (APÊNDICE H). A presença do estufim aumentou a amplitude térmica da temperatura observada em relação ao MJC sem o estufim (Figura 1a). A UR% média observada foi de 91,87% no MJC com uso do estufim, sendo a menor UR% no período de 29,8%. O MJC sem estufim teve UR% média de 85,96% e mínima de 33,2% (APÊNDICE H; Figura 1b).

O MJC com estufim teve DPV médio de 1,45 MPa, mínimo de 0,69 MPa e máximo de 7,33 MPa (APÊNDICE H). Enquanto, o MJC sem estufim teve o DPV médio de 1,40 MPa, mínimo de 0,69 MPa e máximo de 4,83 MPa (Figura 1c).

Figura 1 - Caracterização climática média do período de condução do experimento (21 de junho/2018 – 23 de setembro/2018), Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS



Em que: MJC CE: minijardim clonal com uso do estufim; MJC SE: minijardim clonal sem uso do estufim.

Fonte: Autora (2019).

6.2 ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS DAS MINICEPAS DE *Eucalyptus* spp.

Na caracterização anatômica nota-se que o estufim alterou a anatomia das folhas dos três clones de *Eucalyptus*. Além disso, o estufim aumentou a espessura do parênquima

paliçádico e da epiderme adaxial da folha, possivelmente pela menor intensidade luminosa no ambiente. O estufim reduziu a espessura do parênquima lacunoso para os três clones. A espessura da epiderme abaxial não foi alterada pelos diferentes manejos de MJC. Em relação a espessura do limbo, o *E. dunnii* apresentou maior espessura no MJC com estufim, enquanto o *E. uroglobulus* e *E. saligna* a maior espessura do limbo foi no MJC sem estufim (APÊNDICE I, Tabela 2).

Tabela 2 - Caracterização anatômica das cepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Estufim	Clone	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>
		-----Espessura do parênquima paliçádico (µm)-----		
Com		71,67	63,33	70,00
Sem		66,67	50,00	50,00
		----- Espessura do parênquima lacunoso (µm) -----		
Com		131,67	102,50	77,50
Sem		144,17	108,33	106,67
		----- Espessura da face abaxial da epiderme (µm) -----		
Com		17,50	13,33	14,17
Sem		13,75	12,50	13,33
		----- Espessura face adaxial da epiderme (µm) -----		
Com		19,17	17,50	21,67
Sem		19,17	15,00	21,67
		----- Espessura do limbo (µm) -----		
Com		220,83	190,00	188,33
Sem		281,67	183,33	215,00

Fonte: Autora (2019).

Os fatores clone x estufim apresentaram interação ($p < 0,05$) para as características morfológicas MSPA e AF (APÊNDICE J). Os clones de *E. saligna* e *E. uroglobulus* apresentaram maior MSPA e AF no MJC sem estufim, enquanto o de *E. dunnii* não apresentou diferença entre manejo de MJC. A MSPA dos clones do MJC com estufim não diferiram estatisticamente, enquanto no MJC sem estufim, *E. uroglobulus* apresentou maior MSPA, seguido por *E. saligna* e *E. dunnii* (Tabela 3).

No MJC com estufim, a maior AF foi observada em *E. dunnii*, que não diferiu do *E. uroglobulus*, seguida pelo *E. saligna*. No MJC sem estufim a maior AF foi observada em *E. saligna* e *E. uroglobulus*, seguida pelo *E. dunnii* (Tabela 3). O NF não diferiu com o uso do estufim, nem mesmo entre os clones. O uso do estufim não promoveu diferença significativa na densidade de estômatos. Dentre os clones, a maior densidade de estômatos foi observada nos

clones de *E. dunnii* e *E. uroblubulus*, que não apresentaram diferença, e a menor no *E. saligna*. (Tabela 3).

Tabela 3 - Atributos morfológicos das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.

Clone Estufim	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>	Média geral	CV1 (%)
	----- Massa seca da parte aérea (g) -----				
Com	1,939 Ab*	2,031 Aa	1,764 Ab	1,911	16,35
Sem	2,266 Ba	1,790 Ca	2,579 Aa	2,343	
Média geral	2,300	1,910	2,172	-	-
CV2 (%)		9,62		-	-
----- Número de folhas -----					
Com	297,83 ^{ns}	272,00	290,83	286,89 a	12,51
Sem	240,67	267,67	270,00	259,44 a	
Média geral	269,25 A	269,83 A	280,42 A	-	-
CV2 (%)		15,28		-	-
----- Área Foliar (cm ²) -----					
Com	8.384,42 Bb	9.674,41 Aa	8.771,08 ABb	8.943,30	7,46
Sem	12.790,38 Aa	6.687,75 Bb	11.984,08 Aa	10.487,40	
Média geral	10.587,40	8.181,08	10.377,58	-	-
CV2 (%)		8,22		-	-
----- Densidade de estômatos (mm ²) -----					
Com	332,64	400,86	338,57	357,35 a	24,63
Sem	273,13	314,46	319,36	302,32 a	
Média geral	302,88 B	357,67 A	328,96 AB	-	-
CV2 (%)		14,68		-	-

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação. Ns: não significativo.

Fonte: Autora (2019).

6.3 ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS DAS MINICEPAS DE *Eucalyptus* spp.

6.3.1 Pigmentos fotossintéticos

O manejo do MJC e os clones não apresentaram interação ($p < 0,05$) para o teor de pigmentos fotossintéticos (APÊNDICE K). A presença do estufim contribuiu para o aumento do teor de clorofila *a* nas minicepas. As médias do teor de clorofila *b*, razão clorofila *a/b*, clorofila total e carotenoides não apresentaram diferença com o uso do estufim.

O *E. dunnii*, dentre os clones, apresentou maior teor de clorofila *a*. O teor de clorofila *b* não apresentou diferença significativa entre os clones. *Eucalyptus dunnii* e *E. uroglobulus* apresentaram maior teor de clorofila total e carotenoides, não diferindo entre si (Tabela 4).

Tabela 4 - Teor de pigmentos fotossintéticos (clorofila *a*, *b* e carotenoides) de minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Clone Estufim	Clone			Média geral	CV1 (%)
	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>		
----- Clorofila <i>a</i> -----					
Com	1,19 ^{ns}	1,44	1,24	1,29 a*	6,21
Sem	1,09	1,39	1,12	1,20 b	
Média geral	1,14 B	1,41 A	1,18 B		
CV2 (%)		11,76			
----- Clorofila <i>b</i> -----					
Com	0,33 ^{ns}	0,40	0,37	0,37 a	13,00
Sem	0,32	0,36	0,31	0,33 a	
Média geral	0,32 A	0,38 A	0,34 A		
CV2 (%)		18,55			
----- Clorofila <i>a/b</i> -----					
Com	3,74 ^{ns}	3,60	3,47	3,60 a	7,04
Sem	3,53	3,86	3,70	3,70 a	
Média geral	3,63 A	3,73 A	3,58 A		
CV2 (%)					
----- Clorofila total -----					
Com	2,69 ^{ns}	3,16	3,05	2,97 a	12,54
Sem	2,53	3,16	2,57	2,75 a	
Média geral	2,61 B	3,16 A	2,81 AB		
CV2 (%)		12,78			
----- Carotenoides -----					
Com	0,20 ^{ns}	0,22	0,22	0,22 a	8,71
Sem	0,19	0,22	0,20	0,21 a	
Média geral	0,20 B	0,22 A	0,21 AB	-	-
CV2 (%)		9,25		-	-

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Autora (2019)

6.3.2 Características bioquímicas

Os fatores estudados apresentaram interação significativa ($p < 0,05$) para a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (APÊNDICE L), enquanto a enzima peroxidase (POD) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) foram influenciados somente pelo fator principal (manejo do MJC).

O uso do estufim no MJC reduziu a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) no interior das células vegetais, pois, observa-se menor concentração de H_2O_2 no tecido vegetal das minicepas crescidas nesse ambiente (Tabela 5). Dentre os clones de *Eucalyptus* spp. observa-se a menor produção de H_2O_2 em *E. saligna* e *E. dunnii*, que não diferiram entre si, e a maior produção em *E. uroglobulus*, que não diferiu de *E. dunnii*. A POD teve maior atividade no MJC sem o uso do estufim e dentre os clones a maior produção foi observada em *E. dunnii*. A atividade da enzima SOD não diferiu com a presença/ausência do estufim para *E. saligna* e *E. uroglobulus*. Entretanto, para *E. dunnii* a maior atividade ocorreu no MJC sem estufim, se sobressaindo sobre os demais clones e coincide com o ambiente que apresentou a maior produção de H_2O_2 (Tabela 5).

Tabela 5 - Caracterização bioquímica das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Estufim \ Clone	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>	Média geral	CV1 (%)
	----- Peróxido de hidrogênio ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{MF}^{-1}$) -----				
Com	1,211 ^{ns}	1,340	1,408	1,320 b*	15,19
Sem	1,457	1,677	1,732	1,622 a	
Média geral	1,334 B	1,509 AB	1,570 A	-	-
CV2 (%)		13,44		-	-
----- Enzima guaiacol peroxidase (U mg^{-1} proteína) -----					
Com	3,987 ^{ns}	7,193	4,327	5,169 b	5,352
Sem	10,483	13,830	9,882	11,398 a	
Média geral	7,235 B	10,512 A	7,104 B	-	-
CV2 (%)		9,261		-	-
----- Enzima superóxido dismutase (U mg^{-1} proteína) -----					
Com	1583,055 Aa	1722,630 Ab	1745,177 Aa	1683,621	45,27
Sem	2658,467 Ba	5785,953 Aa	2937,727 Ba	3794,049	
Média geral	2120,761	3754,292	2341,452	-	-
CV2 (%)		38,93		-	-

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Autora (2019).

6.3.3 Fluorescência da clorofila *a*

Os fatores manejo do MJC x clone apresentaram interação ($p < 0,05$) para a taxa máxima de transporte de elétrons (ETR_m), a fluorescência inicial (F_o), razões F_v/F_m e F_v/F_o (APÊNDICE M). O uso do estufim no MJC aumentou o ETR_m e a emissão da fluorescência inicial (F_o) nos clones estudados. No MJC com estufim a maior ETR_m foi observada em *E. dunnii*, seguido pelos demais clones e no MJC sem estufim no *E. saligna* e *E. dunnii*, e a menor ETR_m no *E. uroglobulus*. A emissão de fluorescência inicial foi maior para o *E. saligna*, seguido pelo *E. uroglobulus* e *E. dunnii* no MJC com estufim e no MJC não houve diferença entre as médias (Tabela 6).

O valor de F_m não apresentou interação com a presença/ausência de estufim e os clones estudados (APÊNDICE M), entretanto a presença do estufim contribuiu para aumentar o valor de F_m e, dentre os clones o maior valor para o F_m foi observado em *E. uroglobulus*, seguido pelo *E. saligna* e *E. dunnii*.

As relações F_v/F_m e F_v/F_o apresentaram maiores valores para as minicepas de *Eucalyptus* spp. que se desenvolveram no MJC sem o uso do estufim, com exceção do *E. dunnii* que não apresentou diferença significativa. A relação F_v/F_m das minicepas do MJC com estufim foi maior para *E. dunnii* e menor para *E. saligna* e *E. uroglobulus*, no MJC sem estufim não houve diferença estatística. Na relação F_v/F_o também não ocorreu diferença entre os clones no MJC (Tabela 6).

Tabela 6 - Fluorescência da clorofila *a* das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Estufim \ Clone	<i>E. saligna</i>		<i>E. dunnii</i>		<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>		Média geral	CV1 (%)
	----- ETR _m -----							
Com	85,44 Ba*	115,05 Aa	94,62 ABa	98,37	11,05			
Sem	65,13 Ab	83,78 Ab	37,67 Bb	62,19				
Média geral	75,29	99,42	66,14	-	-			
CV2 (%)		20,14		-	-			
----- F _o -----								
Com	513,33 Aa	372,33 Ca	444,17 Ba	443,28	12,50			
Sem	250,33 Ab	267,83 Ab	283,50 Ab	267,22				
Média geral	381,83	320,08	363,84	-	-			
CV (%)		11,06		-	-			
----- F _m -----								
Com	1.057,17 ^{ns}	974,67	1.110,98	1.047,60 a	5,47			
Sem	908,50	885,00	999,83	931,11 b				
Média geral	982,83 B	929,83 C	1.055,41 A	-	-			
CV2 (%)		5,17		-	-			
----- F _v /F _m -----								
Com	0,52 Bb	0,67 Aa	0,58 Bb	0,59	7,66			
Sem	0,74 Aa	0,70 Aa	0,71 Aa	0,72				
Média geral	0,63	0,68	0,64	-	-			
CV2 (%)		6,34		-	-			
----- F _v /F _o -----								
Com	1,06 Ab	1,56 Ab	1,55 Ab	1,39	21,99			
Sem	2,85 Aa	2,44 Aa	2,57 Aa	2,62				
Média geral	1,96	2,00	2,06	-	-			
CV2 (%)		18,36		-	-			

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação. ETR_m: taxa máxima de transporte de elétrons; F_o: emissão de fluorescência inicial; F_m: emissão de fluorescência máxima; F_v/F_m e F_v/F_o: eficiência fotoquímica máxima do FSII.

Fonte: Autora (2019).

Os dois fatores avaliados não apresentaram interação ($p < 0,05$) para os *quenching's* (APÊNDICE N). O qP (coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica para os fotossistemas separados) não apresentou variação com a presença/ausência do estufim, nem entre clones. O qN (parâmetro do coeficiente de extinção de fluorescência não-fotoquímica) foi menor com o uso do estufim, entretanto não apresentou diferença entre os clones avaliados. O qL (coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica) não diferiu com a presença/ausência

do estufim, e dentre os clones, o *E. saligna* e o *E. dunnii* apresentaram maior qL, seguido pelo *E. uroglubulus* (Tabela 7).

Tabela 7 - *Quenching* fotoquímico e não-fotoquímico das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Clone Estufim	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>	Média geral	CV1 (%)
	----- qP -----				
Com	0,667 ^{ns}	0,672	0,577	0,639 a*	11,55
Sem	0,609	0,566	0,579	0,584 a	
Média geral	0,638 A	0,619 A	0,578 A	-	-
CV2 (%)		9,53		-	-
----- qN -----					
Com	0,414 ^{ns}	0,422	0,459	0,432 b	10,70
Sem	0,558	0,540	0,513	0,537 a	
Média geral	0,486 A	0,481 A	0,486 A	-	-
CV2 (%)		15,30		-	-
----- qL -----					
Com	0,423 ^{ns}	0,396	0,342	0,387 a	10,02
Sem	0,389	0,386	0,351	0,375 a	
Média geral	0,406 A	0,391 A	0,346 B	-	-
CV2 (%)		12,25		-	-

* Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação. qP: Coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica para os fotossistemas separados. qN: Parâmetro do coeficiente de extinção de fluorescência não-fotoquímica. qL: Coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica.

Fonte: Autora (2019).

Os fatores manejo de MJC e clones não apresentaram interação ($p < 0,05$) para os parâmetros de rendimento quântico, $Y_{(II)}$, $Y_{(NO)}$ e $Y_{(NQP)}$ (APÊNDICE N). O uso do estufim promoveu aumento na eficiência quântica efetiva do FSII ($Y_{(II)}$). O *E. saligna* e *E. dunnii*, apresentaram maior ($Y_{(II)}$), enquanto o menor valor foi observado em *E. uroglubulus*. No rendimento quântico de perda de fluorescência não-fotoquímica ($Y_{(NO)}$) e no rendimento quântico de perda de fluorescência por calor ($Y_{(NQP)}$) não houve diferença com a presença/ausência do estufim e entre os clones (Tabela 8).

Tabela 8 - Parâmetros de fluorescência, $Y_{(II)}$, $Y_{(NPQ)}$ e $Y_{(NO)}$, das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Clone Estufim	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>	Média geral	CV1 (%)
	----- $Y_{(II)}$ -----				
Com	0,437 ^{ns}	0,430	0,376	0,414 a*	7,81
Sem	0,361	0,375	0,348	0,361 b	
Média geral	0,399 A	0,403 A	0,362 B	-	-
CV2 (%)		8,27		-	-
----- $Y_{(NO)}$ -----					
Com	0,311 ^{ns}	0,292	0,326	0,309 a	13,52
Sem	0,353	0,328	0,344	0,342 a	
Média geral	0,332 A	0,310 A	0,335 A	-	-
CV2 (%)		16,41		-	-
----- $Y_{(NPQ)}$ -----					
Com	0,252 ^{ns}	0,278	0,299	0,276 a	22,02
Sem	0,286	0,297	0,308	0,297 a	
Média geral	0,269 A	0,288 A	0,304 A	-	-
CV2 (%)		24,24		-	-

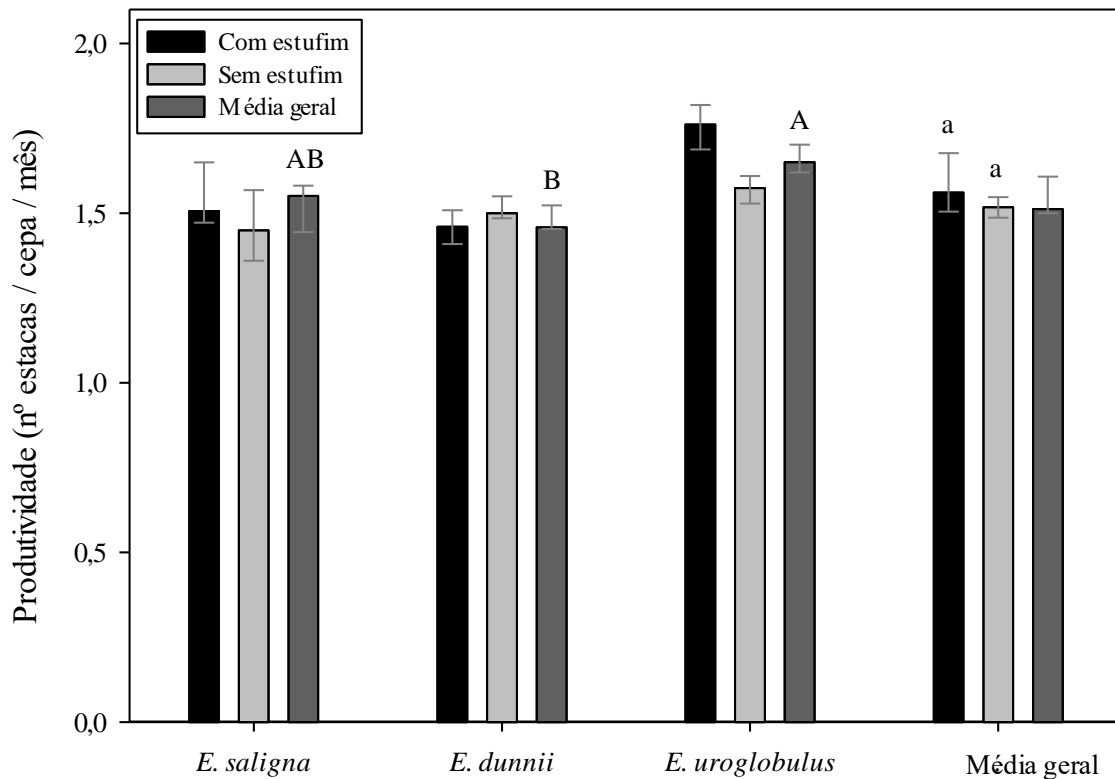
* Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação. $Y_{(II)}$: Rendimento quântico efetivo do FSII; $Y_{(NO)}$: dissipação fotoquímica; $Y_{(NPQ)}$: dissipação não-fotoquímica.

Fonte: Autora (2019).

6.4 PRODUTIVIDADE DE MINIESTACAS

Os fatores clone e estufim não apresentaram interação ($p < 0,05$) para a produção de miniestacas (APÊNDICE O). O manejo do MJC não promoveu mudança na produtividade de miniestacas por mês para os diferentes clones. Dentre os clones, foram observadas maiores produções de miniestacas no *E. uroglobulus* e no *E. saligna*, os quais não diferiram entre si, somente do *E. dunnii* (Figura 2).

Figura 2 - Produtividade média das minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS



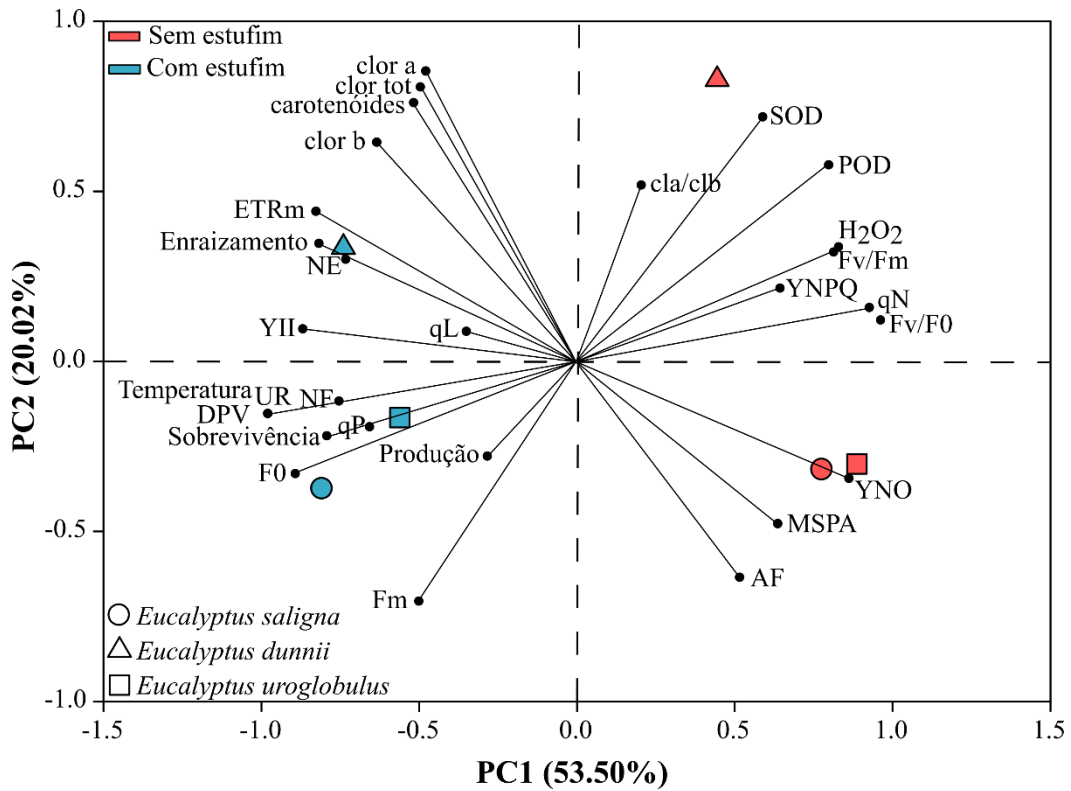
*Médias seguidas da mesma letra maiúscula e minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autora (2019).

6.5 ANALISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

Para a análise de componentes principais (ACP) apenas dois componentes foram extraídos, pois juntas explicaram 73,52% da variabilidade total dos dados (Figura 3). O componente 1 (PC1) explicou 53,50% da variabilidade, com maior influência da AF, MSPA e $Y_{(NO)}$, positivamente correlacionadas entre si. Já as variáveis $Y_{(II)}$, qL, NE, enraizamento (%), ETR_m , chl *a*, chl *b*, chl total e carotenoides apresentaram correlação negativa com as variáveis citadas anteriormente. O componente 2 (PC2) explicou 20,02% da variabilidade e foi influenciado pela relação chl *a/b*, atividade das enzimas SOD e POD, H_2O_2 , F_v/F_m , $Y_{(NQP)}$, qN e F_v/F_o . Nota-se que houve uma grande diferenciação entre a presença e ausência de estufim no MJC por meio de sua colocação no diagrama. Além disso, dentre os clones, o *E. dunnii*, apresentou maior diferenciação em relação aos demais.

Figura 3 - Relação entre o componente principal 1 (PC1) e o componente principal 2 (CP2) para as variáveis avaliadas nas minicepas de *Eucalyptus* spp. na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

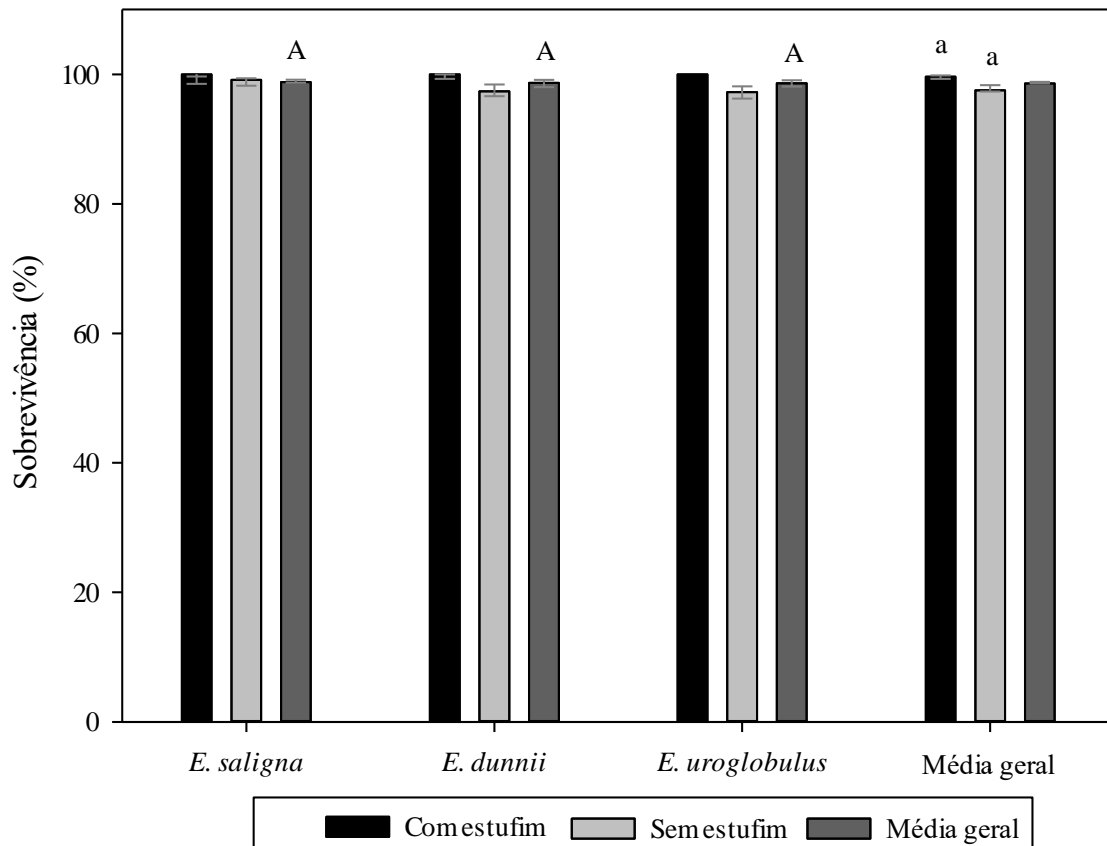


6.6 AVALIAÇÃO DAS MINIESTACAS

6.6.1 Sobrevivência e enraizamento

Os fatores clone e a presença/ausência do estufim no MJC não apresentaram interação ($p < 0,05$) para a sobrevivência das miniestacas (APÊNDICE P), tampouco dos fatores isolados, observando-se sobrevivência próxima de 100% (Figura 4).

Figura 4 - Sobrevivência das miniestacas provenientes de minicepas de *Eucalyptus* spp. desenvolvidas em MJC com e sem estufim na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.

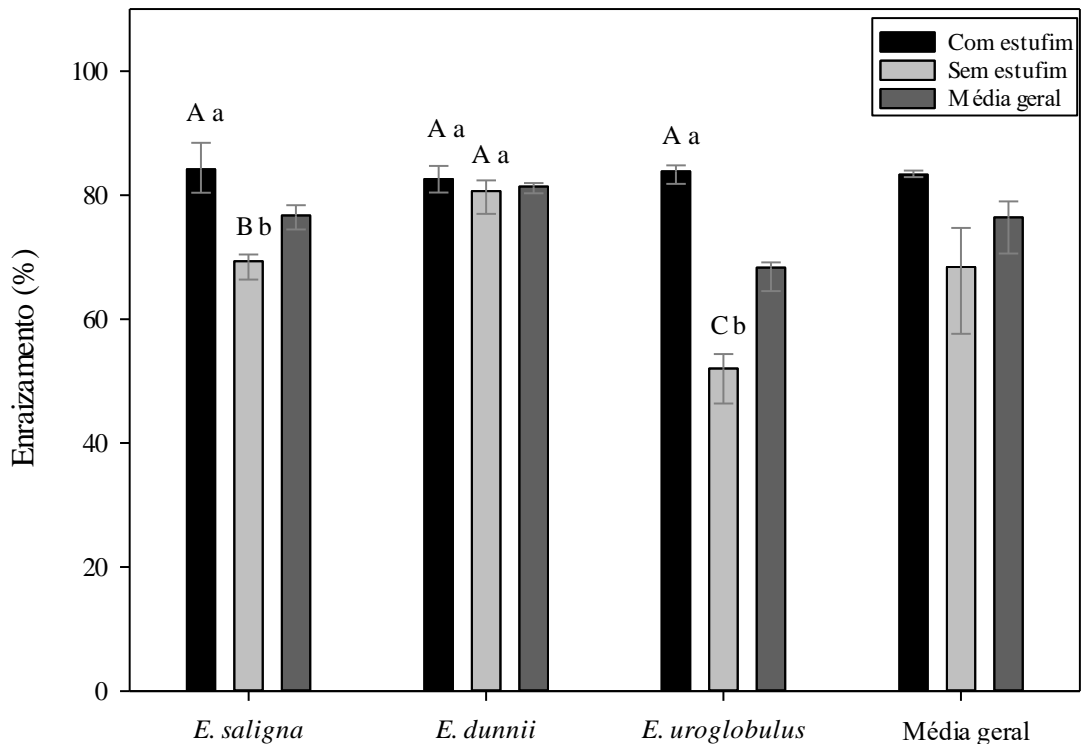


*Médias seguidas da mesma letra maiúscula e minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autora (2019).

O manejo do MJC e os clones apresentaram interação significativa ($p < 0,05$) para o enraizamento das miniestacas (APÊNDICE P). O enraizamento das miniestacas de *E. saligna* aumentou quando estas se desenvolveram em MJC com a presença de estufim. O enraizamento das miniestacas de *E. dunnii* não apresentou diferença significativa, independentemente do MJC no qual se desenvolveu. Porém, o enraizamento de *E. uroglobulus* incrementou aproximadamente 20% quando as miniestacas se desenvolveram no MJC com uso do estufim, indicando a importância dessa prática de manejo para o híbrido. Os clones do MJC com estufim não apresentaram diferença significativa entre si, enquanto que na ausência do estufim o maior enraizamento foi observado em *E. dunnii*, seguido pelo *E. saligna* e *E. uroglobulus* (Figura 5).

Figura 5 - Enraizamento das miniestacas provenientes de minicepas de *Eucalyptus* spp. desenvolvidas em MJC com e sem estufim na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS



*Médias seguidas da mesma letra maiúscula e minúscula não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Fonte: Autora (2019).

6.6.2 Atributos morfológicos das mudas

O uso do estufim e os clones estudados apresentaram interação significativa ($p < 0,05$) para todas as variáveis analisadas nas mudas, com exceção da altura (APÊNDICE Q).

A altura das mudas variou entre os clones, obtendo-se maior incremento para *E. saligna*, seguido de modo decrescente para *E. dunnii* e *E. urolobulus*. O DC para o *E. saligna* e *E. urolobulus* não diferiu com a presença/ausência do estufim no MJC e *E. dunnii* apresentou maior DC para as mudas provenientes do MJC com estufim. Dentre os clones do MJC com estufim, *E. saligna* e *E. dunnii* apresentaram maiores diâmetros, não diferindo entre si, seguido pelo *E. urolobulus*. No MJC sem estufim, o *E. saligna* e *E. urolobulus*, apresentaram maiores diâmetros, seguido pelo *E. dunnii* (Tabela 8).

A AF do *E. saligna* foi maior para as mudas que se desenvolveram a partir de miniestacas do MJC com estufim, e para o *E. dunnii* e *E. urolobulus* não houve diferença. O

E. saligna apresentou maior área foliar, seguido pelo *E. dunnii* e *E. uroglobulus* no MJC com estufim, enquanto no MJC sem estufim não se observou diferença entre as médias (Tabela 8).

A MSPA das mudas de *E. saligna* foi maior para aquelas produzidas por miniestacas do MJC sem estufim, os demais clones não apresentaram diferença. Dentre os clones, a maior MSPA foi observada no *E. saligna*, seguido por *E. dunnii* e *E. uroglobulus*, independente do MJC de origem das miniestacas.

Para os clones de *E. saligna* e do *E. dunnii* provenientes do MJC com estufim observou-se maior MSR; enquanto o híbrido de *E. uroglobulus*, não apresentou diferença com a presença/ausência do estufim. Nas mudas do MJC com estufim, o *E. saligna* teve maior MSR, seguido por *E. dunnii* e *E. uroglobulus*, os quais não apresentaram diferença entre si. Nas mudas provenientes de miniestacas do MJC sem estufim, maior MSR foi observada para o *E. saligna* e *E. uroglobulus* e a menor em *E. dunnii* (Tabela 9).

As mudas de *E. saligna* provenientes do MJC com estufim apresentaram menor MST, os demais clones não apresentaram diferença. Nas mudas produzidas por miniestacas do MJC com estufim, a maior massa seca foi observada em *E. saligna*, seguida por *E. dunnii* e *E. uroglobulus* e, o mesmo observa-se em mudas originadas do MJC sem estufim (Tabela 9).

Tabela 9 - Caracterização das mudas de *Eucalyptus* spp. aos 90 dias após o estaqueamento produzidas na estação do inverno de 2018, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS

Clone Estufim	Clone			Média geral	CV1 (%)
	<i>E. saligna</i>	<i>E. dunnii</i>	<i>E. urophylla</i> x <i>E. globulus</i>		
----- H (cm) -----					
Com	15,39 ^{ns}	13,60	11,50	13,50 a*	7,64
Sem	15,28	13,66	11,89	13,61 a	
Média geral	15,34 A	13,61 B	11,70 C	-	-
CV2 (%)		5,39		-	-
----- DC (mm) -----					
Com	1,83 Aa	1,74 ABa	1,66 Ba	1,74	8,61
Sem	1,85 Aa	1,58 Bb	1,78 Aa	1,75	
Média geral	1,84	1,66	1,72	-	-
CV2 (%)		5,68		-	-
----- AF (cm ²) -----					
Com	9.307,61 Aa	7.738,13 Ba	6.368,52 Ca	7042,31	7,96
Sem	6.817,64 Ab	7.295,90 Aa	7.013,39 Aa	7804,76	
Média geral	8.062,63	7.517,01	6.690,96	-	-
CV2 (%)		9,71		-	-
----- MSPA (g) -----					
Com	0,83 Ab	0,62 B a	0,57 Ba	0,77	15,52
Sem	1,13 Aa	0,56 B a	0,64 Ba	0,67	
Média geral	0,98	0,59	0,60	-	-
CV2 (%)		12,73		-	-
----- MSR (g) -----					
Com	0,31 Aa	0,21 B a	0,19 Ba	0,20	9,39
Sem	0,24 Ab	0,16 B b	0,21 Aa	0,24	
Média geral	0,27	0,18	0,20	-	-
CV2 (%)		11,78		-	-
----- MST (g) -----					
Com	1,13 Ab	0,83 B a	0,76 Ba	0,79	12,28
Sem	1,37 Aa	0,71 C a	0,85 Ba	0,91	
Média geral	1,25	0,77	0,81	-	-
CV2 (%)		10,05		-	-

*Médias seguidas da mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. CV: Coeficiente de variação.

Fonte: Autora (2019).

7 DISCUSSÃO

As regiões subtropicais do Brasil são caracterizadas por estações bem definidas, com grande amplitude térmica, diferente intensidade luminosa (verão $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e inverno $811 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e reduzido fotoperíodo. O inverno no extremo Sul do Brasil é marcado pelo frio, consequência da entrada das massas de ar frio de altas latitudes e com ocorrência de geadas (NERY, 2005). Desse modo, o desenvolvimento do MJC, a coleta das brotações, a produtividade, o enraizamento das miniestacas e a produção de mudas são influenciados pelas condições ambientais (ALFENAS et al., 2004). Apesar disso, existe a demanda de mudas prontas e de qualidade para plantio na estação subsequente, por isso observa-se que as condições observadas nesse estudo são limitantes, características típicas da estação.

O uso do estufim no MJC promoveu aumento da temperatura, UR% e DPV na estação do inverno (Figura 1) aumentando os valores médios em relação ao MJC sem estufim. As baixas temperaturas promovem alterações no metabolismo das plantas como a redução na produtividade das minicepas, enquanto as respostas no enraizamento são variáveis e dependentes do clone (CUNHA et al., 2009a; TRUEMAN; RICHARDSON, 2008; TRUEMAN; MCMAHON; BRISTOW, 2013a; TRUEMAN; MCMAHON; BRISTOW, 2013b). Temperaturas que promovem maiores taxas de enraizamento para *E. dunni*, *E. cloeziana* e *C. citriodora* estão entre 28 e 33 °C (TRUEMAN; MCMAHON; BRISTOW, 2013a). No presente estudo, se observou que a temperatura média, no MJC com estufim e sem estufim, não chegou a alcançar esses valores (Figura 1).

A emissão de brotações e formação de raízes, durante a estação fria, é favorecida quando o ambiente é condicionado ao aumento da temperatura, pois isso age positivamente no processo de divisão celular (HARTMANN et al., 2011). O crescimento em extensão das plantas tropicais e subtropicais é potencializado em temperaturas de 30° a 40°C (LARCHER, 2000), e no estudo apenas as temperaturas máximas alcançaram esses valores (Apêndice H). Estudos observaram que o aumento da temperatura do ar no jardim clonal promoveu ganhos na produção de miniestacas de *Eucalyptus* spp. e de *Piptocarpha angustifolia* Dusén ex Malme (CUNHA et al., 2009a; FERRIANI et al., 2011; TRUEMAN; MCMAHON; BRISTOW, 2013a; 2013b). No presente estudo, o aumento médio observado na temperatura do ar no MJC com estufim foi de 11,5% em relação ao MJC sem estufim, resultado semelhante foi observado por Oliveira (2016). Desse modo, pode-se observar que o aumento promovido pelo estufim nas variáveis ambientais, temperatura, UR% e déficit de saturação do vapor de água no ar, agiu positivamente nos atributos fisiológicos avaliados nas minicepas, sendo recomendado o seu uso na estação fria.

As baixas temperaturas induzem mudanças no processo metabólico das plantas, como alterações no ciclo celular, na fluidez da membrana, no acúmulo de açúcares e no teor de pigmentos fotossintéticos (BENSON, 2008; TAIZ et al., 2017).

O aumento da temperatura, combinado com o aumento da UR% e, conseqüentemente, do DPV (Figura 1), promovidos pelo uso do estufim no MJC melhoram a qualidade das cepas e das miniestacas (Tabela 5, Tabela 6), o que reflete em maior enraizamento (Figura 4) e mudas mais desenvolvidas (Tabela 9) (CUNHA et al., 2009a; OLIVEIRA et al., 2015), conforme observado no presente estudo.

A maior produção de MSPA e AF foi observada nas cepas do MJC sem uso do estufim (Tabela 3). Batista et al. (2015) e Oliveira (2016) observaram que as folhas das cepas produzidas no MJC com estufim apresentam menor área foliar, o que pode ter sido compensada pelo maior número de folhas (embora sem diferença estatística). A área foliar é importante, pois reflete a produção e acúmulo de biomassa, enquanto a alteração da forma foliar é uma resposta das plantas às condições ambientais (TAIZ et al., 2017).

As diferentes condições ambientais nas quais as plantas estão submetidas também influenciam diretamente na sua anatomia (LIMA, 2004), pois o aumento dos valores médios das condições ambientais observadas promoveu aumento do parênquima paliçádico e da espessura da face abaxial da epiderme (Tabela 2). A maior espessura do parênquima paliçádico permite maior fixação de CO₂ com a abertura dos estômatos em curto período de tempo (CASTRO et al. 2009). A menor exposição das planas a luz reduz a espessura do parênquima paliçádico para aumentar a eficiência fotossintética (GOBBI et al., 2011) e aumenta a espessura do parênquima lacunoso para aumentar a absorção de luz e aumentar a eficiência do armazenamento de CO₂ (CASTRO et al. 2009).

A densidade de estômatos entre as minicepas do MJC com estufim e sem estufim não apresentaram diferença estatística significativa (Tabela 3). A quantificação da distribuição dos estômatos na folha é importante na investigação das respostas das plantas às alterações ambientais (CASSON; GRAY, 2008). Quanto maior o número de estômatos maiores são as trocas gasosas (PIRES et al., 2015), além disso, as variações na temperatura e na concentração de CO₂ influenciam na densidade estomática (BROWNLEE, 2001).

O maior teor de clorofila *a* foi observado nas cepas do MJC com estufim (Tabela 4). Nessa circunstância, as plantas com maior concentração de clorofila *a* e *b* são mais eficientes na absorção de luz, o que pode resultar em maiores taxas fotossintéticas e no presente estudo observamos que o teor de clorofila *a* está diretamente relacionada com o ETR_m e Y(II) (Figura 3) (MARENCO; LOPES, 2007). O processo da fotossíntese é iniciado com a absorção de luz

que incide sobre a folha e ativa a clorofila *a* e clorofila *b* (LIU et al., 2004). A clorofila *a* é o pigmento responsável por absorver luz no primeiro estágio do processo fotossintético, e os demais pigmentos auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia para os centros de reação (STREIT et al., 2005). Ambientes com maior intensidade luminosa provocam aumento na relação clorofila *a/b* (SCALON et al., 2003). A eficiência na absorção de luz é dependente dos teores desses pigmentos, e esses variam conforme o ambiente no qual a planta se desenvolve (HAZRATI et al., 2016; PORCAR-CASTELL et al., 2014). Os clones não apresentaram diferenças na concentração de carotenoides (Tabela 4), que são essenciais para a função de fotoproteção, pois rapidamente dissipam os estados excitados da clorofila via ciclo xantofila (TAIZ et al., 2017).

O uso do estufim no MJC contribuiu para a redução da produção de peróxido de oxigênio (H_2O_2) e também promoveu redução da atividade da enzima peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) nas minicepas (Tabela 5). As espécies reativas de oxigênio (EROS), como o composto H_2O_2 , são consequências naturais do metabolismo aeróbico e de processos fotoxidativos e o aumento das suas concentrações na planta são indicativo de estresse (ARORA; SAIRAM; SRIVASTAVA, 2002; FERREIRA et al., 2015). O excesso de EROS no interior das células vegetais pode provocar estresse oxidativo ao reagir com outras moléculas, ocasionando mudanças na permeabilidade das membranas que resulta na morte celular (DEL RIO et al., 2006; FORMAN; MAIORINO; URSINI, 2010).

O combate às EROS ocorre com a ativação do sistema antioxidante enzimático que tem como função metabolizar as EROS e evitar danos às membranas celulares, peroxidação de proteínas e danos ao DNA (GILL; TUTEJA, 2010). As enzimas da família superóxido dismutase (SOD) atuam na degradação do radical O_2^- , gerando como produto o H_2O_2 (FAVARETTO et al., 2011). O excesso de H_2O_2 também pode causar estresse oxidativo em plantas, desse modo é importante a ação de enzimas peroxidases (POD), que resulta em H_2O e O_2 (TAIZ et al., 2017). O uso do estufim é indicado na estação fria pois reduz a formação de espécies reativas de oxigênio, melhorando a qualidade das miniestacas produzidas.

As folhas das minicepas do MJC com a presença de estufim apresentaram maior taxa máxima de transporte de elétrons (ETR_m) (Tabela 6), resultado, possivelmente, ocasionado pelo aumento na temperatura média e do DPV do ambiente próximo das minicepas no MJC com o uso do estufim. O ETR_m representa um indicativo geral da fotossíntese, pois, mede o transporte de elétrons entre os FSII e FSI. A queda no valor desse parâmetro indica a presença de danos no processo fotossintético relacionado aos fatores ambientais (CAMPOSTRINI, 2001; RITCHIE et al., 2010). Plantas expostas a baixa temperatura (0 a 12 °C) tem suas funções

metabólicas afetadas, portanto, a fotossíntese é alterada nessas condições (ARAÚJO; DEMINICIS, 2009). No presente estudo observou-se que o parâmetro ETR_m mostrou-se sensível a redução da temperatura. As baixas temperaturas interferem na transferência de elétrons na cadeia transportadora da fotossíntese, na fosforilação que atua no transporte de elétrons e nas enzimas do ciclo de redução do carbono no estroma do cloroplasto (OQUIST, 1983). Baixos valores de ETR_m podem resultar em queda na produtividade, na qualidade fisiológica das miniestacas e, conseqüentemente, no enraizamento.

A fluorescência inicial (F_o) apresentou aumento nos valores quando as cepas estavam cultivadas no MJC com estufim (Tabela 6). A variável F_o mede o nível mínimo de fluorescência quando todos os complexos antena dos fotossistemas estão abertos (estado adaptado ao escuro) (GORBE; CALATAYUD, 2012). Os menores valores para F_o são considerados ideais, pois o aumento nesse atributo representa uma interrupção na transferência de energia do complexo antena para o centro de reação e degradação da proteína D1 do fotossistema II, sendo indicativo de estresse (CAMPOSTRINI, 2001; BAKER; ROSENQVST, 2004; PRADO; CASALI, 2006; ZLATEV; YORDANOV, 2004). O aumento nos valores desse parâmetro pode ser provocado pela redução nos aceptores de elétrons da plastoquinona e oxidação incompleta que resulta em atraso da cadeia transportadora de elétrons e separação dos complexos de clorofila *a* e *b* no FSII (ASHRAF; HARRIS, 2013; BAKER, 2008).

O F_m aumentou em cepas do MJC com estufim (Tabela 6) e representa o nível máximo de fluorescência quando um pulso de luz de alta intensidade é aplicado e todos os sistemas antena fecham (BAKER; ROSENQVST, 2004). Redução nos valores de F_m indicam redução da quinona A, que está associada a inativação do PSII nas membranas dos tilacóides, comprometendo o fluxo de elétrons entre os fotossistemas (PRADO; CASALI, 2006). Reduções nesse parâmetro geralmente são observadas em locais com elevada intensidade luminosa e condições que promovam estresses às plantas, como baixas temperaturas (HAZRATI et al., 2016).

As cepas do MJC sem estufim apresentaram valores para a relação F_v/F_m entre 0,70 e 0,74, enquanto as cepas do MJC com estufim apresentaram valores menores (Tabela 6). Ritchie et al. (2010) indicam como valores médios ideais para F_v/F_m entre 0,7 e 0,8 enquanto Demmig e Björkman (1987) indicam como valor ótimo 0,83. A razão F_v/F_m tem sido o atributo mais utilizado para a detecção da fotoinibição da fotossíntese (PRADO; CASALI, 2006). O valor da relação F_v/F_m representa a eficiência do uso da luz nas plantas e estima a eficiência potencial do FSII (BAKER, 2008; GORBE; CALATAYUD, 2012; LI et al., 2015). Os atributos fisiológicos representam uma condição instantânea da planta, assim medidas realizadas em uma

única ocasião, podem não refletir a condição fisiológica real, sendo necessárias avaliações constantes e frequentes (RITCHIE et al., 2010). Desse modo, a relação F_v/F_m deve ser utilizada com cuidado, pois na condição estudada, não é uma boa estimativa para a eficiência máxima do FSII, tendo em vista que durante o período do estudo realizou-se apenas duas medições.

A relação F_v/F_0 também é usada como indicador da eficiência máxima do processo fotoquímico no FSII e/ou da atividade fotossintética potencial (razão máxima de produção quântica dos processos concorrentes fotoquímicos e não-fotoquímicos no FSII) apresentando valores ideais entre 4 e 6 (ZANANDREA et al., 2006). No presente estudo os maiores valores foram verificados para as cepas do MJC sem uso do estufim, sendo o valor médio de 2,62, consequência do elevado F_0 apresentado pelas plantas (Tabela 6). Plantas lenhosas submetidas às temperaturas baixas apresentaram redução nessa relação (GLYNN; GILLIAN, 2003), dessa forma, aumento das médias das variáveis ambientais, como a temperatura e luminosidade, poderiam contribuir para o aumento dos valores dessas relações até o considerado ideal.

Para os coeficientes de extinção de fluorescência, qP e qL , não apresentaram variação com a presença ou ausência do estufim (Tabela 7). O coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica (qP) indica a proporção dos centros de reação que estão abertos, ou seja, representa a energia que foi consumida pela fotossíntese (HAZRATI et al., 2016). O coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica (qL) indica o estado redox de Q_A e os valores devem ser sempre menores que qP (BAKER, 2008). As cepas do MJC sem estufim apresentaram maior valor médio do parâmetro do coeficiente não-fotoquímico (qN) (Tabela 7), o que indica que as plantas dissipam a maior parte da energia luminosa absorvida na forma de energia térmica, e não utiliza para a via fotoquímica, responsável pela produção de ATP e NADPH, a “moeda energética” das células (ZANANDREA et al., 2006). Nesse sentido, cepas expostas à menor temperatura, UR% e DVP (Figura 1) apresentam maior dissipação de energia luminosa na forma de energia térmica (Tabela 7).

O uso do estufim promoveu maior eficiência quântica do FSII, pois ocorreu maior aproveitamento da energia na via fotoquímica ($Y_{(II)}$), promovida pelo aumento em temperatura e DPV (Tabela 8) e possivelmente pela maior espessura do parênquima paliádico (Tabela 2). Valores baixos em $Y_{(II)}$ e maiores em $Y_{(NO)}$ indicam menores taxas fotossintéticas (FRANZEN et al., 2007). Valores elevados em $Y_{(NO)}$ e em $Y_{(NPQ)}$ indicam fotoproteção que altera o gradiente de pH da membrana dos tilacóides (GOLAN et al., 2015). Esse ciclo tem papel importante na proteção do FSII quando está sob excesso de energia durante um estresse biótico ou abiótico. A presença/ausência do estufim não promoveu dano no aparato fotossintético da planta, pois não houve aumento em $Y_{(NPQ)}$. Aumento nos valores de $Y_{(NPQ)}$ indica estresse para

a planta, promovido por dano no aparato fotoquímico da mesma, pois, a planta está utilizando o ciclo das xantofilas para dissipar toda a energia luminosa que foi absorvida e não a utiliza no processo fotossintético (CHAVES, 2005).

O uso do estufim não proporcionou ganhos na produção de miniestacas dos clones (Figura 2). O inverno do Sul do Brasil apresenta baixas temperaturas e fotoperíodo reduzido, fatores que influenciam no crescimento vegetativo das plantas, o que reflete em menor produtividade (BRONDANI et al., 2012). As baixas temperatura reduziram a produtividade das cepas de diversos clones de *Eucalyptus* spp. (BATISTA et al., 2015, BRONDANI et al., 2012; OLIVEIRA, 2016). Batista et al. (2015) também observaram que o uso de estufim na estação fria não proporcionou maior produtividade das cepas dos clones estudados, concordando com o presente estudo (Figura 2).

Além disso, observou-se menor número de miniestacas produzidas por minicepa em relação aos estudos de Batista et al. (2015) com os clones: *E. saligna*, *E. urophylla* x *E. globulus* spp *globulus*, *E. urophylla* x *E. grandis*, *E. urophylla* x *E. dunnii*, *E. urophylla* x *E. globulus* spp Maidenii e *E. dunnii*, e Oliveira (2016) que estudou um híbrido de *E. urophylla* x *E. grandis*. A variação na produção de miniestacas é influenciada pela sazonalidade de cada estação, genótipo do material que será propagado, idade ontogenética, manejo do MJC e frequência de coletas (ALFENAS et al., 2009; DAVIES et al., 2017; WENDLING; XAVIER; PAIVA, 2003).

A sobrevivência das miniestacas apresentou valores próximos de 100% e não foi influenciada pelo uso do estufim, para os três clones de *Eucalyptus* spp. estudados (Figura 4). As temperaturas baixas permitiram a manutenção da turgidez das células pelo período necessário da coleta até o estaqueamento, o que resultou no alto índice de sobrevivência observado. Entretanto, a mudança de ambiente ao qual as miniestacas são submetidas apresentam diferentes condições de temperatura e de irrigação (BRONDANI et al., 2008), assim, a elevada sobrevivência das miniestacas de *Eucalyptus* spp. não é garantia de elevada porcentagem de enraizamento (IRITANI; SOARES, 1983).

O uso do estufim no MJC promoveu ganhos expressivos no enraizamento do *E. saligna* e no *E. uroglobulus* (Figura 5). O aumento da temperatura média no ambiente de crescimento das miniestacas pode promover maior fixação líquida de CO₂ e, conseqüentemente, aumenta o conteúdo de carboidratos das miniestacas que se desenvolvem no MJC com estufim, o que reflete em maior enraizamento (DAVIES et al., 2017). O teor de carboidratos é importante no processo de enraizamento, pois a rizogênese requer energia e, em baixas temperaturas, a síntese de sacarose e amido diminui (TAIZ et al., 2017). O enraizamento é influenciado principalmente pelo genótipo, condições fisiológicas e nutrição mineral das cepas, armazenamento e sanidade

das miniestacas, além das condições ambientais as quais estão submetidas (XAVIER et al., 2009). A indução da iniciação radicular ocorre em altos níveis de auxina e baixos de citocinina, e a produção de H_2O_2 devido ao corte na base na miniestaca também estimula o enraizamento das miniestacas. Entretanto a ação da catalase e do ácido ascórbico, responsáveis por degradar o H_2O_2 , podem inibir o enraizamento. O tratamento de miniestacas com auxinas, óxido nítrico e H_2O_2 aumentam a concentração de açúcares solúveis, responsáveis pela melhora no enraizamento de muitas espécies (STEFFENS; RASMUSSEN, 2016). As raízes adventícias são formadas a partir da base da miniestaca e são originadas do floema secundário, câmbio ou de calos produzidos na base das miniestacas, sendo a capacidade rizogênica dependente da interação de diversos fatores (BRONDANI, 2012).

A PCA demonstrou a relação direta entre o enraizamento com o $Y_{(II)}$ e ETR_m , ou seja, as cepas com melhor aproveitamento da energia na via fotoquímica e maior taxa máxima de transporte de elétrons apresentaram resultados superiores no enraizamento, o que foi observado com o uso do estufim. A formação de raízes também é influenciada pelo estado fisiológico da planta matriz, presença de folhas e de gemas, disponibilidade de água, temperatura e substrato (HARTMANN et al., 2011). O conhecimento e monitoramento dos fatores que afetam a indução e a produção de raízes são determinantes para o sucesso na produção de mudas via propagação vegetativa (CUNHA et al., 2009a; CUNHA et al., 2009b). Entretanto, é necessário que esses fatores atuem e/ou se manifestem conjuntamente para que o enraizamento seja induzido.

Em estações mais frias podem ser alcançados grandes índices de enraizamento com o aumento do intervalo de coletas de brotações, desse modo ocorre aumento na área foliar para produção de fotoassimilados que contribuem para aumentar o enraizamento (BRONDANI et al., 2010). As raízes adventícias são importantes para a sobrevivência no campo, resistência ao vento e maior absorção de água e nutrientes aumentando o incremento em biomassa (MOKOTEDI et al., 2010). Ganhos no enraizamento com o uso do estufim foram observados por Assis (2011), Batista et al. (2015) e Oliveira (2016) em estudo com diferentes clones de *Eucalyptus* spp. e Engel et al. (2018) com *Acacia mearnsii* Wild.

Os clones estudados apresentaram diferentes respostas para cada atributo avaliado. Além disso, observa-se que qualquer condição de manejo do MJC, há maior similaridade do comportamento do *E. saligna* e *E. uroglobulus* do que desses com o *E. dunnii* (Figura 3). O *E. dunnii* é considerado uma espécie de clima subtropical, por isso está mais adaptada a condição de inverno, devido a isso, é menos responsiva ao aumento da temperatura no enraizamento. A presença do estufim resultou em taxas de enraizamento maiores que 70%, mínimo exigido pelos

viveiros comerciais, para todos os clones estudados. Quando as cepas se desenvolvem em MJC sem estufim, apenas o *E. dunnii* atingiu o percentual mínimo exigido. Desse modo, destacamos a importância do uso do estufim para os clones *E. saligna* e *E. uroglobulus*.

Estudos realizados por Brondani et al. (2012) demonstraram que a produção de estacas varia conforme o clone de *Eucalyptus* spp. Diferentes taxas de sobrevivência foram observadas para quatro clones de *E. grandis* (WENDLING; XAVIER, 2003) e *E. benthamii* x *E. dunnii* (BRONDANI et al., 2010). Clones de *E. grandis* x *E. urophylla* e *E. grandis* x *E. saligna* (FERREIRA et al., 2004), *E. urophylla* x *E. globulus* e *E. grandis* x *E. globulus* (BORGES et al., 2011) e *E. benthamii* x *E. dunnii* (BRONDANI et al., 2010) apresentaram respostas distintas ao enraizamento. Nesse sentido, as diferentes respostas na produtividade, sobrevivência e enraizamento são consequência das características morfológicas e fisiológicas induzidas pelo ambiente no qual estes se desenvolvem, conforme observado no material estudado.

O uso do estufim no MJC não influenciou na altura das mudas produzidas, entretanto as demais variáveis foram influenciadas (Tabela 9). O DC aumentou em mudas de *E. dunnii* que se desenvolveram a partir de estacas oriundas do MJC com estufim. Entretanto, dependem de maior tempo no viveiro para expedição ao campo visando atingir os valores adequados de qualidade. As mudas recomendadas para plantios comerciais devem apresentar altura entre 20,0 e 40,0 cm, diâmetro do colo > 2,0 mm, tempo de produção de 70 a 150 dias além de estarem em bom estado fitossanitário e nutricional (XAVIER et al., 2009; WENDLING; DUTRA, 2010). O diâmetro do colo é um dos atributos utilizados para qualificar mudas, pois está associado ao sistema radicular e, valores superiores estão relacionados à maior sobrevivência e crescimento no campo (GOMES; PAIVA, 2011, STURION; ANTUNES, 2000).

Mudas de *E. saligna* tiveram maior desenvolvimento da área foliar quando as estacas foram provenientes do MJC com estufim, entretanto, a MSPA foi menor, enquanto os demais não apresentaram diferença (Tabela 9). A área foliar tem relação direta com a capacidade fotossintética e a interceptação de luz de uma planta (SEVERINO et al., 2004). O processo fotossintético das plantas ocorre nas folhas, assim, mudas com maior área foliar devem apresentar maior crescimento e produtividade, pois ocorre maior produção de fotoassimilados (FARIA; GAIVA; PEREIRA, 2002).

O *E. dunnii* e *E. saligna* melhoraram o desenvolvimento do sistema radicular das mudas quando as estacas foram originadas do MJC com estufim, já o *E. uroglobulus* não teve diferença (Tabela 9). As mudas com maior quantidade de raízes apresentam melhor desenvolvimento, aumentando a chance de sobrevivência quando transplantadas para o campo (REIS et al., 2000). O aumento da MSR é ocasionado devido ao incremento das raízes finas, que são responsáveis

pela absorção de água e nutrientes, pois, aumentam a área de contato com o substrato aumentando a superfície de contato (FREITAS, 2007; LOPES et al., 2010).

As mudas dos três clones do estudo apresentaram características morfológicas específicas para cada um (Tabela 9). O maior tempo de permanência no viveiro das mudas dos clones estudados poderá promover ganho nas variáveis observadas, tendo em visto que com o final do período de inverno a temperatura aumenta, incrementando a atividade fotossintética das plantas. Desse modo, as mudas que serão destinadas para plantio no campo terão sistema radicular mais desenvolvido, aumentando as chances sobrevivência.

8 CONCLUSÃO

O uso do estufim no MJC promove melhor qualidade fisiológica nas cepas, devido ao aumento da taxa máxima de transporte de elétrons (ETR_m), do maior rendimento quântico efetivo do fotossistema II ($FS_{(II)}$) e da redução do acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

O enraizamento de *E. saligna* e *E. uroglobulus* foi favorecido pela presença do estufim sobre o MJC, o que é desejável tendo em vista o maior número de mudas produzidas.

O *E. dunnii*, por ser uma espécie com características subtropicais, não teve ganhos no enraizamento com a presença do estufim, entretanto as características das mudas produzidas com estacas do MJC com estufim apresentaram maior massa seca radicular (MSR) e maior diâmetro do colo (DC). O *E. dunnii* apresenta comportamento singular em relação ao *E. saligna* e *E. uroglobulus*, devido a isso, recomenda-se estudos e manejos específicos para esse clone.

Ocorreu aumento da qualidade das mudas provenientes de estacas do MJC com estufim, tendo em vista o melhor desenvolvimento do sistema radicular e maior área foliar de *E. saligna* e, principalmente para o *E. dunnii*.

9 REFERÊNCIAS

- ABBADE, L. C.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R.; CASTRO, E. M.; CENTOFANTE, A. E.; OLIVEIRA, C. Anatomia foliar de ipê-branco (*Tabebuia roseo alba* (Ridl.) Sand.) – Bignoniaceae, proveniente do cultivo *ex vitro* e *in vitro*. **Acta Scientiarum**, v. 31, p. 307-311, 2009.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. 2. ed. Viçosa: MG: Ed da UFV, 2009. 500 p.
- ALMEIDA, J. P. N.; LEITE, G. A.; MENDONÇA, V.; CASTRO FREITAS, P. S.; ARRAIS, I. G.; SILVA TOSTA, M. Concentrações de AIB e substratos no enraizamento e vigor de estacas lenhosas de cajaraneira. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, v. 60, n. 1, p. 11-18. 2017.
- ALSCHER R. G.; ERTURK N.; HEATH L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1331-1341, 2002.
- ALZATE, S. B. A.; TOMAZELLO FILHO, M.; PIEDADE, S. M. de S. Variação longitudinal da densidade básica da madeira de clones de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, *E. saligna* Sm. e *E. grandis* x *urophylla*. **Scientia Forestalis**, n.68, p.87-95, 2005.
- ENGEL, M. L.; JUNIOR, P. C. F.; IKEDA, A. C.; ALCANTARA, G. B.; HIGA, A. R. Use of mini polytunnels for the maintenance of a clone garden of *Acacia mearnsii* de Wildeman in different seasons of the year. **Revista Floresta**. Curitiba-PR, v. 48, n. 4, p. 601-608, 2018.
- ANJOS, R. A. M. dos; FONTE, A. P. N. Rendimento em madeira serrada de espécies de *Eucalyptus*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.16, p.26-32, 2017.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2006, 430p.
- ARAUJO, M. M.; NAVROSKI, M. C; SCHORN, L. A. Caracterização e análise de atributos morfológicos e fisiológicos indicadores da qualidade de mudas em viveiro florestal. In: ARAUJO, M. M.; NAVROSKI, M. C.; SCHORN, L. A. (Ed.). **Produção de sementes e mudas: um enfoque à silvicultura**. 1. ed. Santa Maria: editora UFSM, p. 345–365, 2018.
- ARAÚJO, S. A. C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 7, n. 4, p. 463-472, 2009.
- ARORA, A.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C. Oxidative stress and antioxidative system in plants. **Current Science**, v. 82, p. 1227-1238, 2002.

ARTECA, R. N. **Plant growth substances: principles and substances**. Dordrecht: Chapman & Hall, 1996. 288p.

ASHRAF, M.; HARRIS, P. J. C. Photosynthesis under stressful environments: an overview. **Photosynthetic**, v. 51, p. 163-190, 2013.

ASSIS, T. F., ROSA, O. P., GONÇALVES, S. I. Propagação clonal de *Eucalyptus* por microestaquia, In: Congresso Florestal Estadual, 7. Nova Prata, **Anais**. Santa Maria: UFSM, p. 824, 1992.

ASSIS, T. F. Production and use of *Eucalyptus hybrids* for industrial purposes. In: FRI/CRC-SPF SYMPOSIUM, 200, Noosa. **Hybrid breeding and genetics of forest trees: proceedings...**Brisbane: Department of Primary Industries, p. 63-75, 2000.

ASSIS, T. F.; FETT-NETO, A. G.; ALFENAS, A. C. Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwood with emphasis on *Eucalyptus*. In: Fort, P. O. et al. (Ed.). **Proceedings of plantation forest biotechnology for the 21st century**. New Delhi: Research Signpost, p. 303-333, 2004.

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

ASSIS, T. F. Hybrids and mini-cutting: a powerful combination that has revolutionized the Eucalyptus clonal forestry. **BMC Proceedings**, v. 5, p. 7-18, 2011.

ASSIS, T. F. Melhoria genética de **Eucalyptus**: desafios e perspectivas. 13 p. 2014.

BAILLE, M.; LAURY, J. C.; BAILLE, A. Some comparative results on evapotranspiration of greenhouse ornamental crops, using lysimeter, greenhouse H₂O balance and LVDT sensors. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.304, p. 199-208, 1992.

BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.

BAKER, N. R. Chlorophyll Fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.59, p. 89-113, 2008.

BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 403, p. 1607-1621, 2004.

BALDIN, T.; MARCHIORI, J. N. C.; NISGOSKI, S.; TALGATTI, M.; DENARDI, L. Anatomia da madeira e potencial de produção de celulose e papel de quatro espécies jovens de *Eucalyptus* L'Hér. **Ciência da Madeira**, v. 8, n. 2, p. 114-126, 2017.

BATISTA, A. F.; SANTOS, G. A.; SILVA, L. D.; QUEVEDO, F. F.; ASSIS, T. F. The use of mini-tunnels and the effects of seasonality in the clonal propagation of *Eucalyptus* in a subtropical environment. **Australian Forestry**, v. 1, p. 1-8, 2015.

BENSON, E. E. Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory e practice. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 27, p. 141-219, 2008.

BENZ, J. S.; MIDMORE, D. J.; KELLER, E. R. Planting materials for warm tropic potato production: donor-plant management for the production of rooted cuttings. **Journal of Tropical Agriculture**, v. 73, p. 292-300, 1996.

BERGER, R.; SCHNEIDER, P. R.; FINGER, C. A. G.; HASELEIN, C. R. Efeito do espaçamento e da adubação no crescimento de um clone de *Eucalyptus saligna* Smith. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 12, n. 2, p. 75-87, 2002.

BERTI, C. L. F. **Variação genética, herdabilidades e ganhos na seleção para caracteres de crescimento e forma, em teste de progênes de polinização aberta de *Eucalyptus cloeziana*, aos 24 anos de idade em Luiz Antônio-SP.** 2010. 70f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010.

BINKLEY, D.; CAMPOE, O. C.; ALVAREZ, C.; CARNEIRO, R L.; CEGATTA, I.; STAPE, J. L. The interactions of climate, spacing and genetics on clonal *Eucalyptus* plantations across Brazil and Uruguay. **Forest Ecology and Management**, v. 405, p.271-283, 2017.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. **Plant**, p. 170, p. 489-504, 1987.

BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; MELO, L. A.; ROSADO, A. M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRADBURY, M.; BAKER, N. R. Analysis of the slow phases of the in vivo chlorophyll fluorescence induction curve: Changes in the redox state of photosystem II electron acceptors and fluorescence emission from photosystems I and II. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 51, p. 635-542, 1981.

BRONDANI, G. E. **Aspectos morfofisiológicos na clonagem de *Eucalyptus benthamii***. 2012. 184p. Tese (Doutorado em Ciências, opção em Silvicultura e Manejo Florestal), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

BRONDANI, G. E.; OLIVEIRA, L. S. ; KONZEN, E. R.; DA SILVA, A. L. L.; COSTA, J. L. Mini-incubators improve the adventitious rooting performance of *Corymbia* and *Eucalyptus* microcuttings according to the environment in which they are conditioned. **Annals of the Brazilian Academy of Science**, v. 90, n. 2, p. 2409-2423, 2018.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; ARAUJO, M. A.; PIRES, P. P. Ácido indolbutírico em gel para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Scientia Agraria**. Curitiba, v. 9, n. 2, p. 153-158, 2008.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; DUTRA, L.F.; GROSSI, F. Propagação Vegetativa de *E. benthamii* x *E. dunnii* por miniestaquia. **Documentos 183**. Embrapa Florestas. 2009.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, M. A. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*: (II) sobrevivência e enraizamento de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 20, n. 3, p. 453-465, 2010.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; GROSSI, F.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, M. A. Miniestaquia de *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*: (i) sobrevivência de minicepas e produção de miniestacas em função das coletas e estações do ano. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 22, n. 1, p. 11-21, 2012.

BROWNLEE, C. The long and the short os stomatal density signals. **Trends in Plant Science**, v. 6, n. 10, p. 441-442, 2001.

BRYANT, P. H.; TRUEMAN, S. J. Stem anatomy and adventitious root formation in cuttings of *Angophora*, *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, v. 6, p. 1227-1238, 2015.

BRZOZA-MALCZEWSKA, K.; KUCHARSKA, M.; WIŚNIEWSKA-WRONA, M.; KAŻMIERCZAK, D.; JÓŻWICKA, J.; PAŁYS, B. Modified cellulosic products for application in hygiene and dressing materials – part II. **Fibres and Textiles in Eastern Europe**, v. 23, p. 124-128, 2015.

CALATAYUD, A.; ROCA, D.; MARTÍNEZ, P.F. Spatial-temporal variations in rose leaves under water stress conditions studied by chlorophyll fluorescence imaging. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 564-573, 2006.

CAMPINHOS, E.; IKEMORI, Y. K. Introdução de novas técnicas na produção de mudas de essências florestais. **Silvicultura**, v. 8, n. 28, p. 226-228, 1983.

CAMPOE, O. C.; IANNELLI, C.; STAPE J. L.; COOKD, R. L.; MENDES, J. C. T.; VIVIAN, R. Atlantic forest tree species responses to silvicultural practices in adegraded pasture restoration plantation: From leaf physiology to survival and initial growth. **Forest Ecology and Management**, v. 313, p. 233-242, 2014.

CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: Considerações teóricas e aplicações práticas**. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Apostila, 2001.

CARRILLO, I.; VIDAL, C.; ELISSETCHE, J.; MENDONÇA, R. Wood anatomical and chemical properties related to the pulpability of *Eucalyptus globulus*: a review. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**, v. 80, p. 1–8. 2017.

CARVALHO, C. P. **Influência de baixas temperaturas no crescimento, conteúdo de carboidratos e aclimatização da bromélia endêmica *Nidularium minutum* Mez. cultivada in vitro**. 2012, 119p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em biodiversidade vegetal e meio ambiente - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, 2012.

CASSON, S.; GRAY, J. E. Influence os environmental factors ons tomatal development. **New Phytologist**, v. 178, n. 1, p. 9-23, 2008.

CASTRO, E. M. **Alterações anatômicas, fisiológicas e fitoquímicas em *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento**. 2002. 221f. Tese (Doutorado em fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: Estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009, 234p.

CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; SOARES, A. M.; MELO, H. C.; BERTALUCCI, S. K. V.; VIEIRA, C. V.; JÚNIOR, E. C. L. Adaptações anatômicas de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae), em três regiões distintas da planta, em diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.8 - 16, 2007.

CHAVES, V. V. **Trocas gasosas e fluorescência da clorofila “a” em genótipos de cana-de-açúcar infestados por cigarrinha-das-raízes *Mahanarva fimbriolata***. 2005. 40 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

CORREA, L. R.; FETT-NETO, A. G. Effects of temperature on adventitious root development in microcuttings of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. **Journal of Thermal Biology**, v.29, p.315-324, 2004.

CUNHA, A. C. A. C. M.; PAIVA, H. N.; BARROS, N. F.; LEITE, H. G.; LEITE, F. P. Influência do estado nutricional de minicepas com enraizamento de miniestacas de eucalipto. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. Viçosa, v.33, n.4, p. 591-600, 2009b.

CUNHA, A. C. M. C. M.; PAIVA, H. N.; LEITE, H. G.; BARROS, N. F.; LEITE, F. P. Relação entre variáveis climáticas com produção e enraizamento de miniestacas de eucalipto. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 33, n. 2, p. 195-203, 2009a.

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia Vegetal - Uma Abordagem aplicada**. Porto Alegre, 2011, 304p.

DAMATTA, F. M.; GRANDIS, A.; ARENQUE, B. C.; BUCKERIDGE, M. S. Impacts of climate changes on crop physiology and food quality. **Food Research International**, v. 43, p. 1814-1823, 2010.

DAVIES JR., F. T.; GENEVE, R. L.; WILSON, S. B.; HARTMAANN, H. T.; KESTER, D. E. **Plant Propagation: Principles and Practices**. 9^a Ed. Editora: Pearson, 2017, 1024p.

DEL RÍO, L. A.; SANDALIO, L. M.; CORPAS, F. J.; PALMA, J. M.; BARROSO, J. B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes: production, scavenging, and role in cell signaling. **Physiology Plant**, v. 141, p. 330-335, 2006.

DELWAULLE, J. C.; LAPLACE, Y.; QUILLET, G. Production massive de boutures d' *Eucalyptus* en République Populaire du Congo. **Revista Silvicultura**, v. 8, n. 32, p. 779-781, 1983.

EMBRAPA. Cultivo de eucalipto em propriedades rurais: diversificação da produção e renda. Colombo, PR: **Embrapa Florestas**, 2014, 140p.

FARIA, W. S.; GAÍVA, H. N.; PEREIRA, W. Comportamento de cinco genótipos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.) na fase de germinação e de crescimento de mudas, sob diferentes sistemas de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, 2002.

FAVARETTO, V. F.; MARTINEZ, C. A.; SORIANI, H. H.; FURRIEL, R. Differential responses of antioxidante enzymes in pionner and late-sucessional tropical tree espécies grown under sun and shade condicions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 70, n. 1, p. 20-28, 2011.

FERREIRA, E. M.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; LEITE, H. G.; SARTORIO, R. C.; FILHO, R. M. P. Determinação do tempo ótimo do enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus* spp. **Revista Árvore**, v.28, n.2, p.183-187, 2004.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Experimental Designs pacakge (Portuguese) R package, 2018.

FERREIRA, P. A. A. CERETTA, C. A.; SORIANI, H. H.; TIECHER, T. L.; SOARES, C. R. F. S.; ROSSATO, L. V. NICOLOSO, F. T; BRUNETTO, G.; PARANHOS, J. T; CORNEJO, T. P. Rhizophagus clarus and phosphate alter the physiological responses of *Crotalaria juncea* cultivated in soil with a high Cu level. **Applied Soil Ecology**, v. 91, p. 37-47, 2015.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; HELM, C. V.; BOZA, A.; WENDLING, I.; KOEHLER, H. S. Produção de brotações e enraizamento de miniestacas de *Piptocarpha angustifolia*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 67, p. 257-264, 2011.

FILHO, C.F.D. **Morfologia vegetal**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1993, 243p.

FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. Considerações sobre o plantio de *Eucalyptus dunnii* no Estado do Paraná. **Comunicado Técnico 141**, Colombo - PR, 2005.

FLEXAS, J.; BADGER, M.; CHOW, W. S.; MEDRANO, H.; OSMOND, C. B. Analysis of the relative increase in photosynthetic O₂ uptake when photosynthesis in grapevine leaves is inhibited following low night temperatures and/or water stress. **Plant Physiology**, v. 121, p. 675-684, 1999.

FOELKEL, C. Minerais e nutrientes das árvores dos eucaliptos: Aspectos ambientais, fisiológicos, silviculturais e industriais acerca dos elementos inorgânicos presentes nas árvores. **Eucalyptus Online Book & Newsletter**. 2015. Disponível em: <http://www.eucalyptus.com.br/capitulos/capitulo_minerais.pdf>. Acesso em: 15 setembro de 2019.

FOELKEL, C. E. B.; BARRICHELO, L. E. G.; MILANEZ, A. F. Estudo comparativo das madeiras de *Eucalyptus saligna*, *E. paniculata*, *E. citriodora*, *E. maculata* e *E. tereticornis* para produção de celulose sulfato. **Ipef**, São Paulo, v. 10, p. 17-37, 1975.

FONSECA, S. M., RESENDE, M. D. V., ALFENAS, A. C., GUIMARÃES, L. M. S., ASSIS, T. F., GRATTAPAGLIA, D. **Manual prático de melhoramento genético do Eucalipto**. UFV, Viçosa, 2010.

FORMAN, H. J.; MAIORINO, M.; URSINI, F. Signaling functions of reactive oxygen species. **Biochemistry**, v.49, p.835-842, 2010.

FRANZEN, L. D.; GUTSCHE, A. R.; HENG-MOSS, T. M.; HIGLEY, L. G.; SARATH, G.; BURD, J. D. Physiological and biochemical responses of resistant and susceptible wheat to injury by russian wheat aphid. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 5, p. 1692-1703, 2007.

FREITAS, G. A.; VAZ-DE-MELO, A.; PEREIRA, M. A. B.; ANDRADE, A. A. O.; LUCENA, G. N.; SILVA, R. R. Influência do sombreamento na qualidade de mudas de

Sclerolobium paniculatum Vogel para recuperação de área degradada. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 3, p. 5-12, 2012.

GALLO, R.; PANTUZAA, I. B.; SANTOS, G. A.; RESENDEB, M. D. V.; XAVIER, A.; SIMIQUELI, G. F.; BALDIN, T.; SANTOS, O. P.; VALENTE, B. M. R. T. Growth and wood quality traits in the genetic selection of potential *Eucalyptus dunnii* Maiden clones for pulp production. **Industrial Crops & Products**, v. 123, p. 434-441, 2018.

GARRETT, A. T. A.; CAMARGO, M. B.; GARCIA, F. A. O. Chemical control of *Mycosphaerella* leaf disease on *Eucalyptus dunnii* in Southern Brazil. **Floresta e Ambiente**, v. 25, n. 2, p. 1-9, 2018.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**. Rockville, v. 59, n. 2, p. 309-314, 1977.

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

GLYNN, P.; FRASER, C.; GILLIAN, A. Foliar salt tolerance of *Acer* genotypes using chlorophyll fluorescence. **Journal of Arboriculture**, v. 29, p. 61-65, 2003.

GOBBI, K. F.; GARCIA¹, R.; VENTRELLA, M. C.; NETO¹, A. F. G.; ROCHA, G. C. Área foliar específica e anatomia foliar quantitativa do capim-braquiária e do amendoim-forrageiro submetidos a sombreamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.7, p.1436-1444, 2011.

GOLAN, K.; RUBINOWSKA, K.; KMIEĆ, K.; KOT, I.; GÓRSKA-DRABIK, E.; LAGOWSKA, B. MICHAŁEK. Impact of scale insect infestation on the content of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence in two host plant species. **Arthropod Plant Interactions**, v. 9, p. 55-65, 2015.

GOMES, F. J. B.; COLODETTE, J. L.; BURNET, A.; BATALHA, L. A. R.; SANTOS, F. A. DEMUNER, I. F. Thorough characterization of brazilian new generation of eucalypt clones and grass for pulp production. **International Journal of Forestry Research**, v. 2015, p. 1-10, 2015.

GOMES, J. M.; PAIVA, H. N. **Viveiros florestais: propagação sexuada**. Viçosa: UFV, 2011, 116 p.

GONÇALVES, J. L. M.; ALVARES, C. A.; HIGA, A. R.; SILVA, L. D.; ALFENAS, A. C.; STAHL, J. Integrating genetic and silvicultural strategies to minimize abiotic and biotic constraint in Brazilian eucalypt plantations. **Forest Ecology and Management**, v. 301, p. 6-27, 2013.

GONÇALVES, J. L. M., STAPE, J. L., LACLAU, J. P., BOUILLET, J. P., RANGER, J. Assessing the effects of early silvicultural management on long-term site productivity of

fastgrowing eucalypt plantations: the Brazilian experience. **Southern Forests**. Graharnstown, v. 70, p. 105-118, 2008.

GONÇALVES, J. L. M.; STAPE, J. L. WICHERT, M. C. P.; GAVA, J. L. Manejo de resíduos vegetais e preparo do solo. In: GONÇALVES, J. L. M.; STAPE, J.L. **Conservação e cultivo de solos para plantações florestais**. Piracicaba: IPEF, p. 131-204, 2002.

GONZÁLEZ-CANDIA, P.; RODRÍGUEZ, F.; SANFUENTES, E.; SOSSA, K. Efecto de rizobacterias en el enraizamiento de miniestacas en dos clones híbridos de *Eucalyptus* spp. **Ciencia e Investigación Forestal**, v. 22, n. 1, p. 51-63, 2016.

GORBE, E.; CALATAYUD, A. Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 138, p. 24-35, 2012.

GUISELINI, C.; SENTELHAS, P. C.; PANDORFI, H.; HOLCMAN, E. Temperatura e umidade do ar em ambientes protegidos cobertos com plástico transparente associado à malha termorefletora, instalada externa e internamente. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.15, p.157-162, 2007.

HARDNER, C.M., HEALEY, A.L., DOWNES, G., HERBERLING, M., GORE, P.L., 2016. Improving prediction accuracy and selection of open-pollinated seed-lots in *Eucalyptus dunnii* Maiden using a multivariate mixed model approach. **Annals of Forest Science**, v. 73, p. 1035-1046, 2016.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JÚNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation** - principles and practices. New York: Prentice-Hall International, 2011. 770 p.

HAZRATI, S.; TAHMASEBI-SARVESTANI, Z. MODARRES-SANAVY, S. A. M.; MOKHTASSI-BIDGOLI, A.; NICOLA, S. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 106, p. 141-148, 2016.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.

IBÁ, **Relatório 2017 (ano-base 2016)**. Indústria Brasileira de Árvores, Brasília, 80p. 2017.

IBÁ, **Relatório 2019 (ano-base 2018)**. Indústria Brasileira de Árvores, Brasília, 80p. 2019a.

IBÁ, **Sumário executivo 2019 (ano-base 2018)**. Indústria Brasileira de Árvores, Brasília, 6p. 2019b.

IRITANI, C.; SOARES, R. V. Indução do enraizamento de estacas de *Araucaria angustifolia* através da aplicação de reguladores de crescimento. In: **CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO**, 4, 1982, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: SBS, p. 313-317, 1983.

JAGTAP, V.; BHARGAVA, S.; STREB, P. FEIERABEND, J. Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Journal of Experimental Botany**. v. 49, n. 327, p. 1715-1721, 1998.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mcgraw-Hill Book, 1940. 523 p.

JUNIOR, L. S; WENDLING, I. Propagação vegetativa de *Eucalyptus dunnii* via miniestaquia de material juvenil. **Pesquisa Florestalis**, n. 46, p. 21-30, 2003.

KONRAD, M. L. F; SILVA, J. A. B.; FURLANI, P. R.; MACHADO, E. C. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**. Campinas, v.64, n.3, p.339-347, 2005.

KRATZ, D. **Substratos renováveis para produção de mudas de *Eucalyptus benthamii* Maiden et cambage e *Mimosa scabrella* Benth.** Curitiba: UFPR, 2011. 118f. Dissertação (Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná, PR, 2011.

KRAUSE, G.H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basic. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p.313-349, 1991.

KULLAN, A. R.; VAN DYK, M. M.; HEFER, C. A.; JONES, N.; KANZLER, A.; MYBURG, A. A. Genetic dissection of growth, wood basic density and gene expression in interspecific backcrosses of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **BMC Genet**, p. 13-60, 2012.

LACLAU, J.P.; RANGER, J.; DELEPORTE, P.; NOUVELLON, Y.; SAINT-ANDRE, I.; MARLET, S.; BOUILLET, J. P. Nutrient cycling in a clonal stand of *Eucalyptus* and an adjacent savana exosystem in Congo 3. Input-output budgets and consequences for the sustainability of the plantations. **Forest Ecology and Management**. Amsterdam, v. 210, n. 1, v. 3, p. 375-391, 2005.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Rima Editora, São Carlos, 2000, 531p.

LI, S.; YANG, W.; YANG, T.; CHEN, Y.; NI, W. Effects of cadmium stress on leaf chlorophyll fluorescence and photosynthesis of *Elsholtzia argyi* da cádmium accumulating plant. **International Journal Phytoremediation**, v. 17, p. 85-92, 2015.

LIMA, E. C. **Micropropagação, calogênese e anatomia foliar de Sangra d'água (*Croton urucurana* Baill)**. 2004. 105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

LIU, Z., YAN, H., WANG, K., KUANG, T., ZHANG, J., GUI, L., AN, X., CHANG, W. Crystal structure of spinach major light-harvesting complex at 2.72 Å resolution. **Nature**, v. 428, p. 287-292, 2004.

LOPES, V. G.; SCHUMACHER, M. V.; CALIL, F. N.; VIERA, M.; WITSCHORECK, R. Quantificação de raízes finas em um povoamento de *Pinus taeda* L. e uma área de campo em Cambará do Sul (RS). **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 20, p. 569-578, 2010.

LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**. Rockville, v. 127, p. 1781-1787, 2001.

LUDLOW, M. M; SANTA MARIA F. J.; FUKAI, S. Contribution of osmotic adjustment to grain yield of *Sorghum bicolor* (L) Moench under water limited conditions: Water stress after anthesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 41, p. 67-78, 1990.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. Viçosa: Ed. da UFV, 2007. 469p.

MOKOTEDI, M. E. O.; WATT, M. P.; PAMMENTER, N. W. Analysis of differences in field performance of vegetatively and seed-propagated Eucalyptus varieties II: vertical uprooting resistance. **Southern Forests: a Journal of Forest Science**. v. 72, p. 31-36, 2010.

MONTEIRO, J. E. P. A. **Agrometeorologia dos cultivos: o fator meteorológico na produção agrícola**. Brasília, DF: INMET, 2009, 530p.

NERY, J. T. Dinâmica climática da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 1, n. 1, 2005.

O'BRIEN, T. P; MC CULLY, M. E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Melbourne, Termarcaphi Pty Ltd. 1981.

OLIVEIRA, A. S. **Propagação clonal de eucalipto em ambiente protegido por estufins: produção, ecofisiologia e modelagem do crescimento das miniestacas**. 2016. 48 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Meteorologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

OLIVEIRA L. S.; BRONDANI G. E.; BATAGIN-PIOTTO K. D.; CALSAVARA, R.; GONÇALVES A. N.; ALMEIDA, M. Micropropagation of *Eucalyptus cloeziana* mature trees. **Australian Forestry**, v. 78, n. 4, p. 219-231, 2015.

OQUIST, G. Effects of low temperature on photosynthesis. **Plant Cell Environment**, v. 6, p. 281-300, 1983.

PADILHA, N. S.; SILVA, C. J.; PEREIRA, S. B.; SILVA, J. A. N.; HEID, D. M.; BOTTEGA, S. P.; SCALON, S. P. Q. Crescimento inicial do pinhão-manso submetido a diferentes regimes hídricos em Latossolo Vermelho distrófico. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 513-521, 2016.

PALUDZYSZYN FILHO, E.; SANTOS, P. E. T. DOS; FERREIRA, C. A. Eucaliptos indicados para plantio no estado do Paraná. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2006. 45p. (Embrapa Florestas. Documentos, 129).

PÉREZ, C. E. A. **Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em plantas de trigo supridas com silício e infectadas por *Pyricularia oryzae***. 2013. 38 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

PIRES, M. F.; PEREIRA, M. P.; CASTRO, E. M.; BARBOSA, S.; PEREIRA, F. J. Micromorfometria foliar de *Schinus molle* L. (Anarcadiaceae) em diferentes alturas na copa. **Revista Cerne**, v. 21, n. 1, p. 17-25, 2015.

PORCAR-CASTELL, A.; TYYSTJÄRVI, E.; ATHERTON, J.; VAN DER TOL, C.; FLEXAS, J.; PFÜNDEL, E.E.; MORENO, J.; FRANKENBERG, C.; BERRY, J.A.; Linking chlorophyll a fluorescence to photosynthesis for remote sensing applications: mechanisms and challenges. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, p. 4065-4095, 2014.

POSPÍŠIL, P. Mechanisms of non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching in higher plants. **Photosynthetica**, v. 34. p. 343-355, 1998.

PRADO, C. H. B. A.; CASALI, C. A. **Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição**. Barueri: Manole, 2006, 448 p.

PREVEDELLO, J.; KAISER, D. R.; REINERT, D. J.; VOGELMANN, E. S.; FONTANELA, E.; REICHERT, J. M. Manejo do solo e crescimento inicial de *Eucalyptus grandis* Hill ex-Maiden em argissolo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 129-138, 2013.

RAYMOND, C. A., THOMAS, D. S., HENSON, M. Predicting pulp yield and pulp productivity of *Eucalyptus dunnii* using acoustic techniques. **Australian Forestry**, v. 73, p. 91-97, 2010.

REIS, J. M. R.; CHALFUN, N. N. J.; LIMA, L. C. DE O.; LIMA, U. C. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, 2000.

RITCHIE, G. A.; LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Assessing plant quality. In: LANDIS, T. D.; DUMROESE, R. K.; HAASE, D. L. Seedling Processing, Storage, and Outplanting. v. 7, **Department of Agriculture Forest Service**, cap.2, p 19-81, 2010.

ROCHA, S. C.; QUOIRIN, M. Calogênese e rizogênese em explantes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) cultivados in vitro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 91-101, 2004.

ROCKWOOD, D. L.; BOWMAN, R. L. Medically related products obtainable from *Eucalyptus* trees. **International Journal of Biological Sciences**, v. 1, p. 1-10, 2017.

SANTOS, K. F.; SCHUMACHER, M. V.; LUDVICHAK, A. A.; ARAÚJO, E. F. Biomass and stock of nutrients in nifferent genotypes of *Eucalypts* in Southern Brazil. **Journal of Experimental Agriculture International**, v. 34, p. 1 - 12, 2019.

SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; RIGONI, M. R.; SCALON FILHO, H. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 27, n. 6, p. 753-758, 2003.

SERPA, P. N.; VITAL, B. R.; DELLA LUCIA, R. M.; PIMENTA, A. S. Avaliação de algumas propriedades da madeira de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna* e *Pinus elliottii*. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 27, n. 5, p. 723-733, 2003.

SEVERINO, L. S.; CARDOSO, G. D.; VALE, L. S.; SANTOS, J. W. Método para determinação da área foliar da mamoneira. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.8, p.753-762, 2004.

SIDMAN, R. L., MOTTOLA, P. A., FEDER, N. Improved polyester wax embedding for histology. **Stain Technology**, v. 36, p. 279-284, 1961.

SILVA, J. C.; XAVIER, B. A. **Eucalipto: manual prático do fazendeiro florestal, produzindo madeira com qualidade**. Viçosa, MG, 2006. 65 p.

SOUZA, A.V., PEREIRA, A.M.S. Enraizamento de plantas cultivadas in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.9, n.4, p.103-117, 2007.

SOUZA, C. C.; XAVIER, A.; LEITE, F. P.; SANTANA, R. C.; PAIVA, H. N. Densidade de minicepas em minijardim clonal na produção de mudas de eucalipto. **Pesquisa florestal brasileira**, v. 34, n. 77, p. 49-56, 2014.

STEFFENS, B.; RASMUSSEN, A. The physiology of adventitious roots. **Plant Physiology**, v. 170, p. 603-617, 2016.

STREIT, M. N.; CANTERLE, L. P.; CANTO; M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

STURION; J. A.; ANTUNES, B. M. A. Produção de mudas de espécies florestais. In: GALVÃO, A. P. M. **Reflorestamento de propriedades rurais para fins de produtivos e ambientais**, p.125-150, 2000.

TABALDI, L. A. **Avaliação bioquímica-fisiológica de clones de batata em relação ao alumínio**. 2008, 181f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F.; DARDENGO, M. C. J.D.; EFFGEN, T. A. M. Comportamento fisiológico de dois clones de *Eucalyptus* na época seca e chuvosa. **Cerne**, v. 13, n. 2, p. 149-159, 2007.

TETENS, V. O. Über einige meteorologische Begriffe. **Zeitschrift Geophysic**, v. 6, p. 297-309, 1930.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C. Dinâmica de enraizamento de microestacas e miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 26, n. 6. p. 665-673, 2002.

TRUEMAN, S. J., HUNG, C. D., WENDLING, I. Tissue Culture of *Corymbia* and *Eucalyptus*. **Forests**, v. 9, p. 84, 2018.

TRUEMAN, S.J., MCMAHON, T.V., BRISTOW, M. Production of cuttings in response to stock plant temperature in the subtropical eucalypts, *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus dunnii*. **New Forest**, v. 44, p. 265-279, 2013a.

TRUEMAN, S.J., MCMAHON, T.V., BRISTOW, M. Production of *Eucalyptus cloeziana* cuttings in response to stock plant temperature. **Journal of Tropical Forest Science**. v. 25, p. 60-69, 2013b.

TSAKALDIMI, M.; GANATSAS, P.; JACOBS, D. F. Prediction of planted seedling survival of five Mediterranean species based on initial seedling morphology. **New forests**, v. 44, n. 3, p. 327-339, 2013.

WASSNER, D.; RAVETTA, D. Vegetative propagation of *Grindelia chiloensis* (Asteraceae). **Industrial Crops and Products**, v. 11, p.7-10, 2000.

XAVIER, A.; COMÉRIO, J. Microestaquia: uma maximização da micropropagação de *Eucalyptus*. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 20, n. 1, p. 9-16, 1996.

XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones híbridos de *eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**. Viçosa, v. 25, n. 4, p. 403-411, 2001.

- XAVIER, A.; WENDLING, I. **Miniestaquia na clonagem de *Eucalyptus***. Viçosa, MG: SIF, 1998. 10p. (Informativo Técnico SIF, 11).
- XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura clonal: princípios e técnicas**. 2. ed. Viçosa, MG: Ed. da UFV, 2013. 279 p.
- WENDLING I.; DUTRA LF. Produção de mudas de eucalipto por sementes. In: Wendling I, Dutra LF. **Produção demudas de eucalipto**. Colombo: Embrapa Florestas; 2010, p. 13-47.
- WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry – part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. **New Forest**, v. 45, n. 4, p. 473-486, 2014.
- WENDLING, I.; XAVIER A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta Ambiente**, n. 8, v.1, p. 187-194, 2001.
- WENDLING, I.; XAVIER, A. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 38, n. 4, p. 475-480, 2003.
- WENDLING, I.; XAVIER, A.; PAIVA, H. N. Influência da miniestaquia seriada no vigor de minicepas de clones de *Eucalyptus grandis*, **Revista Árvore**. Viçosa, v. 27, n. 5, p. 611-618, 2003.
- WENDLING , I.; XAVIER, A.; TITON, M. Miniestaquia na silvicultural clonal de *Eucalyptus*. **Folha Florestal**, v. 1, p. 16-17, 1999.
- ZANANDREA, I; NASSI, F. L.; TURCHETTO, A. C.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A. Efeito da salinidade sob parâmetros de fluorescência em *Phaseolus vulgaris*. **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, v. 12, n. 2, p. 157-161, 2006.
- ZERAIK, A.E.; SOUZA, F.S.; FATIBELLO-FILHO, O. Desenvolvimento de um spot teste para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v.31, p.731-734, 2008.
- ZLATEV, Z. S.; YORDANOV, I. T. Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v. 30, p. 3-18, 2004.
- ZHU, Z.; WEI, G.; LI, J.; QIAN, Q.; YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.) **Plant Science**, Dijion, v. 167, p. 527-533, 2004.

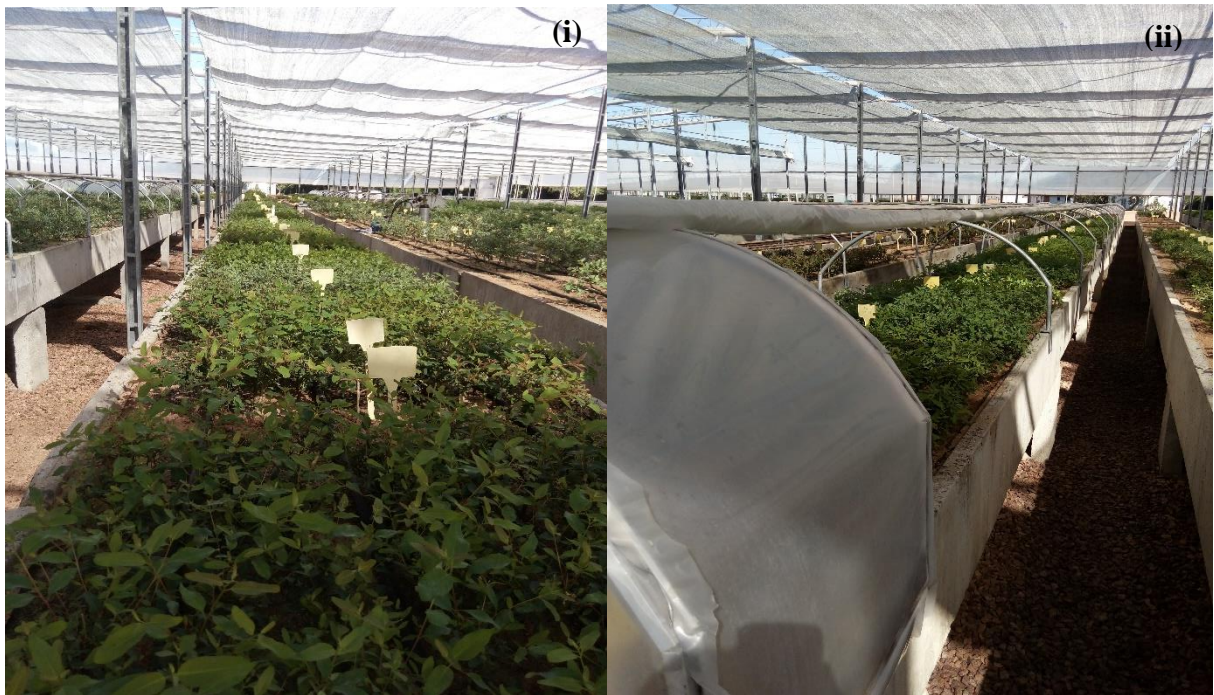
APÊNDICES

APÊNDICE A – Estrutura de um minitúnel, vista frontal (i) e lateral (ii), Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.



Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE B - Minicepas no MJC em que se desenvolveram, em que (i) MJC sem estufim e (ii) MJC com estufim, Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.



Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE C - Procedimento para a avaliação da fluorescência da clorofila *a*, (i) aclimação ao escuro com papel alumínio por 30 minutos, (ii) aplicação do pulso de luz e, (iii) momento da avaliação com equipamento Junior Pan, Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.



Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE D - Estaca no tamanho padrão de coleta do MJC para posterior estaqueamento e formação de mudas, Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.



Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE E - Ambiente para enraizamento das estacas e modelo da distribuição dos tubetes nas bandejas adotado pela empresa, Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.



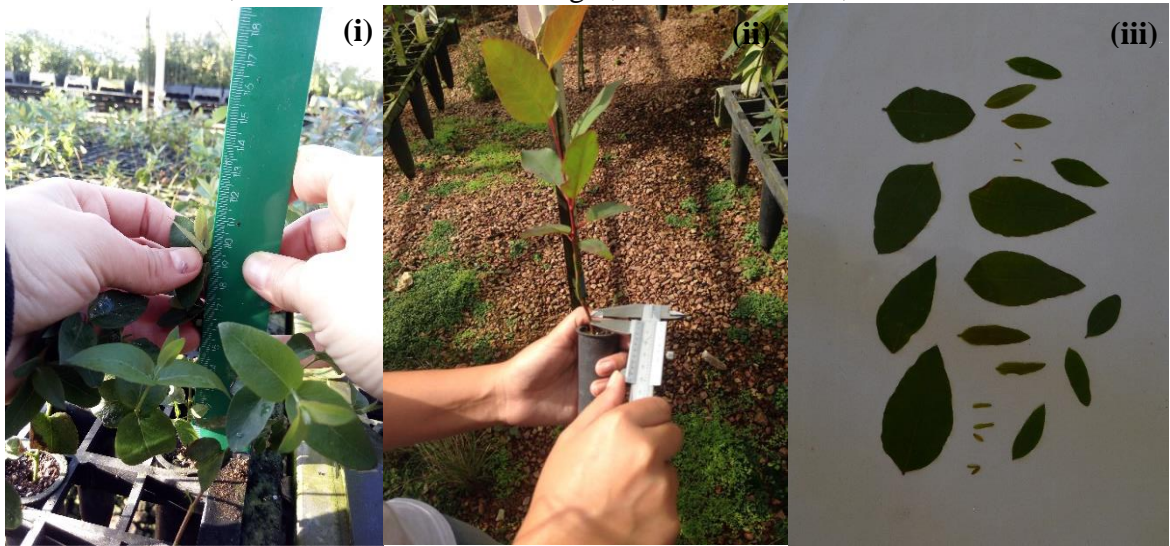
Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE F - Mudas com 90 dias após o estaqueamento no ambiente de crescimento, Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.



Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE G - Avaliação das mudas produzidas a partir de estacas do MJC estudado, Viveiro Florestal da CMPC, Horto Florestal Barba Negra, Barra do Ribeiro, RS.

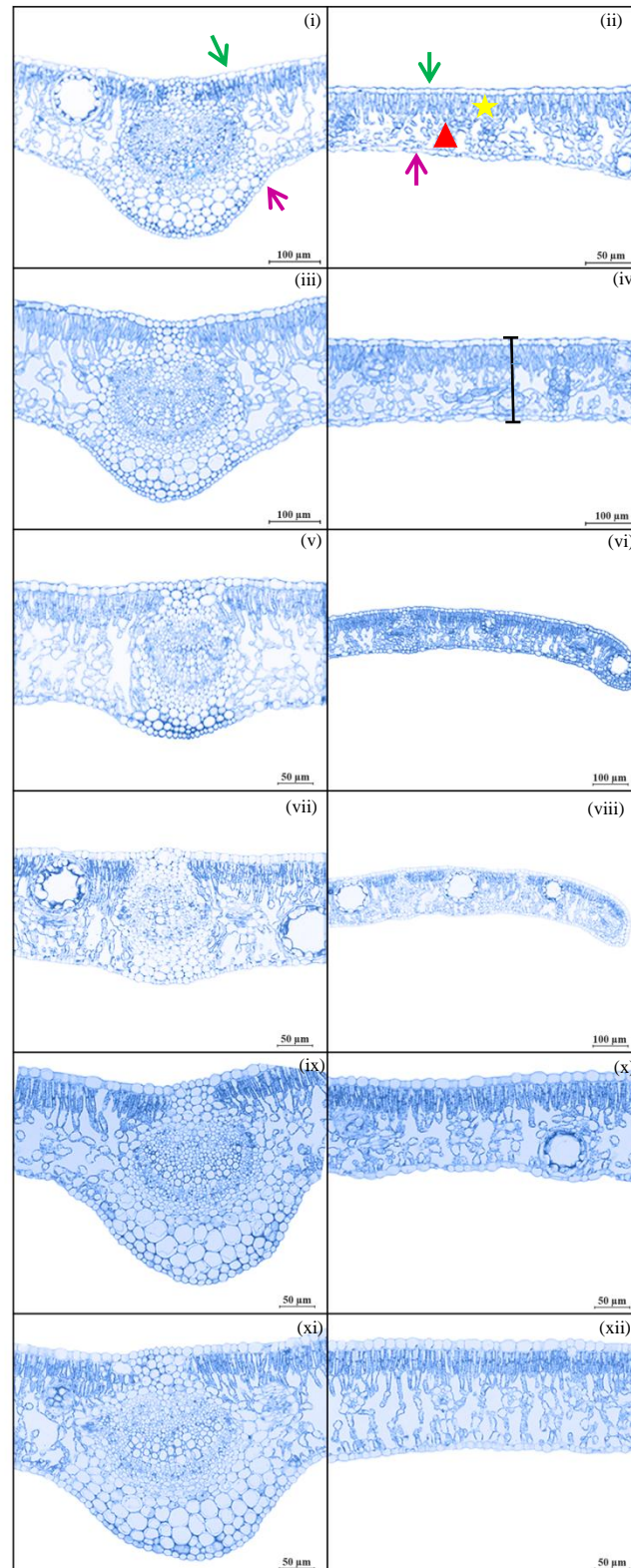


Fonte: Autora (2019).

APÊNDICE H – Caracterização climática (mínimas, médias e máximas) observadas no período de condução do experimento (21 de junho/2018 – 23 de setembro/2018) nos dois manejos de MJC (com e sem estufim) de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Dias após o início do inverno	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d	60 d	70 d	80 d	90 d
MJC CE									
Temperatura máxima	40,3	38,6	38,4	32,6	40,3	42,0	40,2	37,8	42,7
Temperatura média	16,2	15,3	18,3	16,1	16,0	17,0	16,8	19,0	21,5
Temperatura mínima	11,3	8,3	8,3	9,1	9,0	9,5	6,3	10,9	13,7
UR% máxima	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9
UR% média	96,6	97,6	93,7	96,5	91,4	87,1	88,2	87,8	87,9
UR% mínima	52,6	64,3	47,1	50,3	38,4	37,3	29,8	37,8	37,8
DPV máxima	6,5	5,9	5,7	4,1	6,7	7,3	6,5	5,6	7,3
DPV média	1,3	1,2	1,5	1,2	1,4	1,5	1,4	1,6	1,9
DPV mínima	0,9	0,7	0,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,8	1,0
MJC SE									
Temperatura máxima	30,6	29,8	34,4	26,8	32,6	33,9	30,6	29,8	34,4
Temperatura média	14,9	14,5	17,2	14,7	14,6	16,8	14,9	14,5	15,2
Temperatura mínima	7,5	7,5	7,8	6,2	6,9	9,3	7,5	7,5	7,8
UR% máxima	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9
UR% média	91,0	94,8	89,2	89,2	84,4	82,8	81,0	80,6	80,7
UR% mínima	35,7	50,4	43,6	43,7	35,8	33,2	35,7	50,4	43,6
DPV máxima	3,8	3,6	4,8	3,0	4,4	4,8	3,8	3,6	4,8
DPV média	1,2	1,1	1,5	1,2	1,3	1,5	1,4	1,6	1,9
DPV mínima	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,7	0,7	0,7

APÊNDICE I – Caracterização anatômica das folhas das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.



Em que: (i) e (ii) *E. saligna* com estufim. (iii) e (iv) *E. saligna* sem estufim. (v) e (vi) *E. dunnii* com estufim. (vii) e (viii) *E. dunnii* sem estufim. (ix) e (x) *E. uoglobulus* com estufim. (xi) e (xii) *E. uoglobulus* sem estufim. Estrela: Parênquima paliçádico. Triângulo: Parênquima lacunoso. Setas: epiderme face abaxial (verde) e epiderme adaxial (rosa). Linha preta: espessura do limbo foliar.

APÊNDICE J - Análise de Variância (Quadrado médio) para massa seca aérea (MSPA), número de folhas (NF), área foliar (AF) e número de estômatos (NE) das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		MSPA	NF	AF	NE
Estufim (A)	1	0,81330 *	67778,8 .	21458279,0 **	27265,0
Clone (B)	2	0,21988 *	474,1 ;	21318110,0 ***	9010,3 *
Estufim * Clone	2	0,83952 ***	2191,9 ^{ns}	47254775,0 ***	3430,0 ^{ns}
Bloco	5	0,03221	987,1	964801,0	751,5
Média geral		2,127	273,17	989,36	329,84
CV1 (%)		16,35	12,51	7,46	24,63
CV2 (%)		9,62	15,28	8,22	14,62

^{ns}: Interação não-significativa, ‘***’: F significativo a 0,001; ‘**’: F significativo a 0,01; ‘*’: F significativo a 0,05; ‘.’: F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação.

APÊNDICE K - Análise de Variância (Quadrado médio) para teor de pigmentos fotossintéticos, clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total, clorofila *a/b* e carotenoides das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios				
		Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>a/b</i>	Clorofila total	Carotenoides
Estufim (A)	1	0,074668 *	0,013153 .	0,086900 ^{ns}	0,412870	0,000982
Clone (B)	2	0,256189 ***	0,011708 .	0,069480 ^{ns}	0,914200 **	0,001782
Estufim * Clone	2	0,003569 ^{ns}	0,001991 ^{ns}	0,207020 ^{ns}	0,186250 ^{ns}	0,000389 *
Bloco	5	0,020860	0,002450	0,122420	0,239720	0,000777
Média geral		1,25	0,35	3,65	2,86	0,21
CV1 (%)		6,21	13,00	7,04	12,54	8,71
CV2 (%)		11,76	18,55	17,54	12,78	9,25

^{ns}: Interação não-significativa, ‘***’: F significativo a 0,001; ‘**’: F significativo a 0,01; ‘*’: F significativo a 0,05; ‘.’: F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação.

APÊNDICE L - Análise de Variância (Quadrado médio) para produção de H₂O₂ e atividade das enzimas POD e SOD das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		H ₂ O ₂	POD	SOD
Estufim (A)	1	0,82265 **	349,25 ***	40085170,00 **
Clone (B)	2	0,18011 *	44,73 ***	9426489,00 **
Estufim * Clone	2	0,00727 ^{ns}	1,04 ^{ns}	8591339,00 **
Bloco	5	0,02712	0,12	1761297,00
Média geral		1,471	8,284	2738,835
CV1 (%)		15,19	5,35	45,27
CV2 (%)		13,44	9,26	38,93

^{ns}: Interação não-significativa, ‘***’: F significativo a 0,001; ‘**’: F significativo a 0,01; ‘*’: F significativo a 0,05; ‘.’: F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação.

APÊNDICE M - Análise de Variância (Quadrado médio) para taxa máxima de transporte de elétrons (ETR_m), fluorescência inicial (F_0), fluorescência máxima (F_m), rendimento quântico do FSII (F_v / F_m) e (F_v / F_0) das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios				
		ETR_m	F_0	F_m	F_v / F_m	F_v / F_0
Estufim (A)	1	11778,50 ***	278960,00 ***	122139,00 **	0,148 ***	13,521 ***
Clone (B)	2	3545,30 ***	12102,0 **	47690,00 ***	0,011 **	0,034
Estufim * Clone	2	1061,60 *	19375,00 ***	2675,00 ns	0,026 ***	0,719 *
Bloco	5	198,70	5512,00	4451,0	0,005	0,335
Média geral		80,28	360,75	989,36	0,65	2,01
CV1 (%)		11,05	12,50	5,47	7,66	21,99
CV2 (%)		20,14	11,06	5,17	6,34	18,36

ns: Interação não-significativa, '***': F significativo a 0,001; '**': F significativo a 0,01; '*': F significativo a 0,05; '·': F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação. ETR_m : taxa máxima de transporte de elétrons; F_0 : emissão de fluorescência inicial; F_m : emissão de fluorescência máxima; F_v/F_m e F_v/F_0 : eficiência fotoquímica máxima do FSII.

APÊNDICE N - Análise de Variância (Quadrado médio) para Quenching fotoquímico (qP) e não-fotoquímico (qN) das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		qP	qN	qL
Estufim (A)	1	0,026450 .	0,099751 **	0,001225
Clone (B)	2	0,011357 .	0,000121	0,011585 **
Estufim * Clone	2	0,008751 ns	0,006475 ns	0,001379 ns
Bloco	5	0,003470	0,006085	0,001393
Média geral		0,612	0,484	0,381
CV1 (%)		11,55	10,70	12,25
CV2 (%)		9,53	15,30	10,02

ns: Interação não-significativa, '***': F significativo a 0,001; '**': F significativo a 0,01; '*': F significativo a 0,05; '·': F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação. qP: Coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica para os fotossistemas separados. qN: Parâmetro do coeficiente de extinção de fluorescência não-fotoquímica. qL: Coeficiente de extinção de fluorescência fotoquímica.

APÊNDICE O - Análise de Variância (Quadrado médio) para $Y_{(II)}$, $Y_{(NO)}$ e $Y_{(NQP)}$ das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		$Y_{(II)}$	$Y_{(NO)}$	$Y_{(NQP)}$
Estufim (A)	1	0,025069 **	0,009248 .	0,003846
Clone (B)	2	0,006121 **	0,002262	0,003526
Estufim * Clone	2	0,001726 ns	0,000440 ns	0,000446 ns
Bloco	5	0,001016	0,002645	0,005314
Média geral		0,388	0,326	0,287
CV1 (%)		7,81	13,52	22,02
CV2 (%)		8,27	16,41	24,24

ns: Interação não-significativa, '***': F significativo a 0,001; '**': F significativo a 0,01; '*': F significativo a 0,05; '·': F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação. $Y_{(II)}$: Rendimento quântico efetivo do FSII; $Y_{(NO)}$: dissipaçoão fotoquímica; $Y_{(NQP)}$: dissipaçoão não-fotoquímica.

APÊNDICE P - Análise de Variância (Quadrado médio) para produtividade de estacas das cepas de três clones de *Eucalyptus* spp. cultivados em dois manejos de MJC, sobrevivência e enraizamento das estacas de três clones de *Eucalyptus* spp. produzidas em dois manejos de MJC.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios		
		Produtividade	Sobrevivência	Enraizamento
Estufim (A)	1	0,049516	26,947000	2687,040000 **
Clone (B)	2	0,105110 *	0,521200	635,660000 ***
Estufim * Clone	2	0,045328 ns	5,054800 ns	681,500000 ***
Bloco	5	0,031848	2,114200	84,060000
Média geral		1,554	98,716	83,441
CV1 (%)		11,81	2,08	10,84
CV2 (%)		10,36	1,48	8,25

ns: Interação não-significativa, '***': F significativo a 0,001; '**': F significativo a 0,01; '*': F significativo a 0,05; '·': F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação.

APÊNDICE Q - Análise de Variância (Quadrado médio) para altura (H), diâmetro do coleto (DC), área foliar (AF), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca radicular (MSR) e massa seca total (MST) das mudas de três clones de *Eucalyptus* spp.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios					
		H	DC	AF	MSPA	MSR	MST
Estufim (A)	1	0,110	0,000650	5231887 **	0,9678 *	0,009 **	0,047
Clone (B)	2	39,817 ***	0,101424 ***	5723099 ***	0,58214 ***	0,052 ***	0,851 ***
Estufim * Clone	2	0,192	0,062760 **	7601112 ***	0,10381 ***	0,012 **	0,101 ***
Média geral		13,55	1,74	7423,53	0,72	0,22	0,94
CV1 (%)		7,61	8,60	7,96	15,50	9,39	12,28
CV2 (%)		5,39	5,68	9,71	12,73	11,78	10,05

ns: Interação não-significativa, '***': F significativo a 0,001; '**': F significativo a 0,01; '*': F significativo a 0,05; '·': F Significativo a 0,1. CV: Coeficiente de variação.