



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
VEGETAL**

RAMON NEGRÃO SANTOS JUNIOR

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A
FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM
CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

**Vitória
2023**

RAMON NEGRÃO SANTOS JUNIOR

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A
FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM
CONDIÇÕES DE SALINIDADE**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Elias Terra Werner

Coorientadores:

Prof. Dr. José Eduardo M. Pezzopane

Dra. Talita Miranda Teixeira Xavier

**Vitória
2023**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

S237e Santos Junior, Ramon Negrão, 1991-
Efeitos da aplicação de selênio exógeno sobre a fisiologia de mudas de eucalipto cultivadas em condições de salinidade / Ramon Negrão Santos Junior. - 2023.
95 f. : il.

Orientador: Elias Terra Werner.

Coorientadores: Talita Miranda Teixeira Xavier, José Eduardo Macedo Pezzopane.

Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. estresse salino. 2. fluorescência. 3. mudanças climáticas. 4. trocas gasosas. I. Werner, Elias Terra. II. Xavier, Talita Miranda Teixeira. III. Pezzopane, José Eduardo Macedo. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. V. Título.

CDU: 57


Ramon Negrão Santos Junior

“EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE”


Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Vegetal.

Tese aprovada em 28 de setembro de 2023.


Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ELIAS TERRA WERNER**
Data: 06/10/2023 14:47:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Elias Terra Werner (UFES)
Orientador e Presidente da Comissão

Documento assinado digitalmente
 **ANTELMO RALPH FALQUETO**
Data: 01/10/2023 14:44:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto (UFES)
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 **PAULO CEZAR CAVATTE**
Data: 06/10/2023 11:12:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte (UFES)
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 **ANGELA PIERRE VITÓRIA**
Data: 28/09/2023 18:49:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Angela Pierre Vitória (UENF)
Examinadora Externa

Documento assinado digitalmente
 **JOSINEI RODRIGUES FILHO**
Data: 28/09/2023 21:47:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Josinei Rodrigues Filho (FAVENI)
Examinador Externo

SANTOS JUNIOR, R. N. **Efeitos da aplicação de selênio exógeno sobre a fisiologia de mudas de eucalipto cultivadas em condições de salinidade**. 2023. 95f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, UFES, Espírito Santo. Brasil.

RESUMO

O selênio (Se) ainda não é considerado como um elemento essencial ao metabolismo vegetal. Contudo, está bem documentado que em doses adequadas o Se pode ser benéfico às plantas e aprimorar os mecanismos de tolerância ao estresse. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de Se (0, 1, 5 e 25 μM) em dois genótipos de eucalipto (VCC 865 e AEC 0144) cultivados ou não em condições salinas (0 e 100 mM de NaCl). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado e cada genótipo foi consistiu num experimento independente. Após 60 dias de tratamento, avaliou-se o crescimento, biomassa, concentração de íons (K^+ , Na^+ e Ca^{2+}) nos tecidos vegetais, fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e teor de pigmento foliar. Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA e comparados pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Os resultados observados mostraram que a salinidade afetou significativamente a altura, diâmetro do colo (D_c), biomassa, taxa de fotossíntese líquida (P_N), taxa de transpiração (T_R), condutância estomática (g_s), eficiência quântica máxima do FSII (F_V/F_M), a concentração de íons K^+ , Na^+ e Ca^{2+} nos tecidos vegetais. No entanto, a aplicação de Se foi capaz de aumentar a concentração de K^+ nas raízes, reduzir a concentração de Na^+ nas folhas e de atenuar os distúrbios observados sobre a banda-L e nos demais parâmetros do teste-JIP (Area , ABS/RC , RE_0/RC , ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}). Não se observou os mesmos efeitos sobre a banda-K. O teor de pigmentos cloroplastídicos também não foi influenciado pela salinidade ou aplicação de Se. Por fim, concluiu-se que a aplicação de 1 e 5 μM de Se foi capaz de reduzir a concentração de Na^+ nas folhas, melhorando a homeostase celular, o desempenho do complexo antena II e a conservação de energia no aparato fotossintético das mudas de VCC 865 e AEC 0144.

Palavras-chave: estresse salino • fluorescência • mudanças climáticas • trocas gasosas

SANTOS JUNIOR, R. N. **Effects of exogenous selenium application on the physiology of eucalyptus seedlings cultivated in salinity conditions.** 2023. 95f. Thesis (Doctoral in Plant Biology) – Postgraduation Program in Plant Biology, UFES, Espírito Santo. Brazil.

ABSTRACT

Selenium (Se) is not yet considered an essential element for plant metabolism. However, it is well documented that in adequate doses Se can be beneficial to plants and improve stress tolerance mechanisms. In this scenario, the objective of this work was to evaluate the effects of applying Se (0, 1, 5 and 25 μM) in two eucalyptus genotypes (VCC 865 and AEC 0144) cultivated or not in saline conditions (0 and 100 mM NaCl). The experiment was carried out in a completely randomized design and each genotype consisted of an independent experiment. After 60 days of treatment, growth, biomass, concentration of ions (K^+ , Na^+ and Ca^{2+}) in plant tissues, chlorophyll *a* fluorescence, gas exchange and pigment content were evaluated. The data obtained were submitted to ANOVA and compared using the Duncan test ($p < 0.05$). The observed results showed that salinity significantly affected the height, collar diameter (D_c), biomass, net photosynthetic rate (P_N), transpiration rate (T_R), stomatal conductance (g_s), maximal quantum efficiency of PSII (F_v/F_m), the concentration of K^+ , Na^+ and Ca^{2+} ions in plant tissues. However, the application of Se was able to increase the concentration of K^+ in the roots, reduce the concentration of Na^+ in the leaves and attenuate the disturbances observed in the L-band and in the other parameters of the JIP test (Area, ABS/RC, RE_0/RC , ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}). The same effects were not observed on the K-band. The content of chloroplast pigments was also not influenced by salinity or Se application. Finally, it was concluded that the application of 1 and 5 μM of Se was able to reduce the concentration of Na^+ in the leaves, improving cellular homeostasis, the performance of the light-harvesting complex II and energy conservation in the photosynthetic apparatus of VCC 865 and AEC 0144 seedlings.

Keywords: climate changes • fluorescence • gas exchange • salt stress

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: A: Indivíduo adulto de *Eucalyptus grandis*; B: folhas e flores; C: casca e tronco; e D: fruto.22
- Figura 2: A: Indivíduo adulto de *Eucalyptus urophylla*; B: folhas e flores; C: casca e tronco; e D: fruto.23
- Figura 3: A: O espectro solar e sua relação com o espectro de absorção da clorofila. A curva A representa a emissão de energia pelo sol em função do comprimento de onda. A curva B é a energia que atinge a superfície da Terra. A curva C é o espectro de absorção da clorofila. B: Absorção e emissão de luz pela clorofila. À esquerda, a absorção ou emissão de luz é indicada pelas linhas verticais que conectam o estado-base com os estados excitados dos elétrons. As bandas de absorção da clorofila no azul e no vermelho (que absorvem fótons azuis e vermelhos, respectivamente) correspondem às setas verticais para cima, significando que a energia absorvida da luz provoca uma alteração na molécula do estado-base para um estado excitado. A seta que aponta para baixo indica fluorescência, em que a molécula vai do estado de menor excitação para o estado-base, reemitindo energia na forma de fótons. À direita, estão os espectros de absorção nos comprimentos de onda curto (azul) e longo (vermelho), bem como o comprimento de onda da fluorescência na cor vermelha (Fonte: TAIZ et al., 2017).....29
- Figura 4: A: F_0 = fluorescência inicial, F_v = fluorescência variável; F_m = fluorescência máxima, F_d = decréscimo da fluorescência, F_s = fluorescência de estado estacionário; R_{Fd} = taxa de decréscimo da fluorescência (Fonte: LICHTENTHALER; BUSCHMANN; KNAPP, 2005). B: Fotografia de Eugene Maksimov e Maria Maksimova, tirada em um quarto escuro, mostrando folhas verdes e folhas com fluorescência vermelha de *Ficus microcarpa* (Fonte: STIRBET et al., 2014).....30
- Figura 5: Curva OJIP típica (seguida por um declínio para o estado estacionário; S), em escala de tempo logarítmica, registrada ao longo de 1 s de iluminação por saturação de luz vermelha (650 nm; $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em uma amostra de folha previamente adaptada ao escuro. As inserções mostram o mesmo transiente em diferentes escalas de tempo lineares: (a; centro) até 120 s, (b; canto superior esquerdo) até 200 ms e (c; canto superior direito) até 20 ms. Fonte: STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA (2004).....31
- Figura 6: A: mudas produzidas no viveiro Clonatech; B: entrada do viveiro; C: mini jardim clonal; D: enraizamento das mudas.44
- Figura 7: Clones de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) adquiridos em idade de expedição aos 90 dias. A: VCC 865 (*E. urograndis*) e B: AEC 0144 (*E. urophylla*). Barra de escala = 3 cm.45

Figura 8: Visão geral do experimento. A: mudas adquiridas (VCC 865 e AEC 0144) em tubetes; B: transplântio para vasos de 12 L; C: mudas após acondicionamento. Barra de escala = 16 cm	45
Figura 9: Ilustração dos tratamentos utilizados no presente experimento, para cada um dos genótipos (VCC 865 e AEC 0144). Barra de escala = 25 cm.	47
Figura 10: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre altura (A: VCC 865; B: AEC 0144) e diâmetro do colo (C: VCC 865; D: AEC 0144) de plantas de dois genótipos de eucalipto, cultivadas ou não em condições salinas (S) durante 60 dias. Os dados são apresentados como médias (n = 4) e as barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (p<0,05).	52
Figura 11: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre a biomassa seca de plantas de eucalipto, após 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S); A VCC 865; e B: AEC 0144. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (p<0,05). As letras minúsculas comparam as massas de cada órgão vegetal entre colunas e as letras maiúsculas comparam as colunas (n = 4).	53
Figura 12: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre a eficiência quântica máxima do FSII (F _V /F _M) em folhas de mudas de eucalipto (A: VCC 865; e B: AEC 0144) durante 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S). As médias (n = 4) seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (p<0.05). As barras representam o erro padrão da média.....	56
Figura 13: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre a taxa de fotossíntese líquida (P _N), taxa de transpiração (T _R), condutância estomática (g _s) e concentração interna de CO ₂ (C _i) em folhas de mudas de eucalipto (VCC 865: A, C, E, G; e AEC 0144: B, D, F e H) após 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S). As médias (n = 4) seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (p<0.05). As barras representam o erro padrão da média.	57
Figura 14: Análise de Componentes Principais (PCA) de 12 parâmetros do teste-JIP em plantas de VCC 865 (<i>E. urograndis</i>) e AEC 0144 (<i>E. urophylla</i>) não estressadas ou estressadas por sal, após 60 dias de tratamento (n = 4). A e B: VCC 865, C e D: AEC 0144.	77
Figura 15: Efeitos da aplicação de diferentes dosagens de selênio em plantas de <i>Eucalyptus spp.</i> não estressadas ou estressadas por sal. Curva OJIP para o intervalo O-P (A: VCC 865; e B: AEC 0144) e Curvas diferenciais (ΔV _{OP}) para o intervalo O-P (C: VCC 865; e D: AEC 0144). As cores representam os tratamentos, (n = 4).....	78

Figura 16: Efeitos da aplicação de diferentes dosagens de selênio em plantas de <i>Eucalyptus spp.</i> não estressadas ou estressadas por sal. Curvas diferenciais (ΔV_{OP}) para os intervalos O-K (A: VCC 865; e B: AEC 0144) e O-J (C: VCC 865; e D: AEC 0144). As cores representam os tratamentos, (n = 4).....	80
Figura 17: Gráfico radar representando os efeitos da aplicação de diferentes dosagens de selênio em 12 parâmetros do teste-JIP, em plantas de VCC 865 (A; <i>E. urograndis</i>) e AEC 0144 (B; <i>E. urophylla</i>) não estressadas ou estressadas por sal. Os valores apresentados foram normalizados usando como referências as plantas controle (C), n =4. Onde: C (●), 1 Se (●), 5 Se (▲), 25 Se (▲), NaCl (■), NaCl + 1 Se (■), NaCl + 5 Se (◆), NaCl + 25 Se (◆).	81
Figura 18: Variação do índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons finais do FSI (PI_{total}). A: VCC 865 (<i>E. urograndis</i>) e B: AEC 0144 (<i>E. urophylla</i>). As letras minúsculas comparam os diferentes parâmetros entre as colunas e as letras maiúsculas comparam as colunas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente em $p \leq 0,05$ pelo teste de Duncan, n = 4.....	82
Figura 19: Plantas de dois genótipos de eucalipto após 60 dias de tratamento. Os tratamentos incluem diferentes concentrações de selênio (Se; 0, 1, 5 e 25 μ M) e o cultivo ou não em condições salinas (NaCl; 0 e 100 mM). A: VCC 865 (<i>E. urograndis</i>); B = AEC 0144 (<i>E. urophylla</i>). Barra de escala = 25 cm.....	91
Figura 20: Injúrias promovidas em folhas de <i>Eucalyptus</i> pelo cultivo em condições salinas por 60 dias.....	92
Figura 21: Análise de componentes principais (PCA) de 14 variáveis fisiológicas sobre os efeitos da aplicação de selênio (Se) em plantas de eucalipto estressadas ou estressadas por sal (S). A e B: VCC 865; C e D: AEC 0144.	94
Figura 22: Correlação entre as 14 variáveis fisiológicas avaliadas e as componentes principais (PC). A: VCC 865; B: AEC 0144.	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição da solução nutritiva de Clark (1975).	46
Tabela 2: Efeitos do selênio (Se) nas concentrações de K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , $K^+:Ca^{2+}$ e $K^+:Na^+$ em raiz, caule e folhas de plantas de VCC 865 (<i>E. urograndis</i>) após 60 dias de cultivo em condições salinas (S; 100 mM NaCl).	53
Tabela 3: Efeitos do selênio (Se) nas concentrações de K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , $K^+:Ca^{2+}$ e $K^+:Na^+$ em raiz, caule e folhas de plantas de AEC 0144 (<i>E. urophylla</i>) após 60 dias de cultivo em condições salinas (S; 100 mM NaCl).	54
Tabela 4: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre o teor de pigmentos de plantas de dois clones de eucalipto, após 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S).	58
Tabela 5: Composição da solução nutritiva de Clark (1975).	71
Tabela 6: Definição dos parâmetros do teste JIP utilizados neste estudo (STRASSER et al. 2004; TSIMILLI-MICHAEL, 2020).	73
Tabela 7: Matriz de autovalores gerados na Análise de Componentes Principais (PCA).....	76
Tabela 8: Matriz de autovalores gerados na Análise de Componentes Principais (PCA).....	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de variância
$(a+b)/(x+c)$	razão clorofilas totais/ carotenoides totais
AEC 0144	Genótipo de <i>Eucalyptus urophylla</i>
CEO	Centro de evolução do oxigênio
Chl $(a+b)$	Clorofilas totais
Chl <i>a</i>	Clorofila <i>a</i>
Chl <i>b</i>	Clorofila <i>b</i>
C _i	Concentração interna de CO ₂
CO ₂	Dióxido de carbono
Cys	Cisteína
Dc	Diâmetro do colo
DMSe	Dimetilseleneto
DMSO	Dimetilsulfóxido
ERO	Espécie reativa de oxigênio
FAO	Organização das nações unidas para alimentação e agricultura (do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
Fl Chl <i>a</i>	Fluorescência da clorofila <i>a</i>
FSI	Fotossistema I
FSII	Fotossistema II
F _v /F _M	Eficiência quântica máxima do FSII
g _s	Condutância estomática
H	Altura
IRGA	Analisador de gás por infravermelho (do inglês <i>Infrared Gas Analyzer</i>)
JIP	Teste realizado com a curva OJIP, baseado na teoria do fluxo de energia em biomembranas fotossintéticas
LHCII	Complexo antena do fotossistema II
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
Met	Metionina
MS	Massa seca
MSC	Massa seca caulinar
MSF	Massa seca foliar
MSR	Massa seca radicular
MST	Massa seca total
OJIP	Curva de fluorescência da clorofila <i>a</i> registrada com o PEA, baseado no efeito Kautsky
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa (do inglês <i>Photosynthetically Active Radiation</i>)

PC	Componente principal
PCA	Análise de componentes principais
PEA	Analisador da eficiência da planta (do inglês <i>Plant Efficiency Analyser</i>)
P _N	Taxa de fotossíntese líquida
Q _A	Quinona A, em estado oxidado
Q _A ⁻	Quinona A, em estado reduzido
RC	Centro de reação
Se	Selênio
SeCys	Selenocisteína
SeMet	Selenometionina
Taxa <i>a/b</i>	Razão clorofila <i>a/</i> clorofila <i>b</i>
T _R	Taxa de transpiração
VCC 865	Genótipo de <i>Eucalyptus urograndis</i>
x+c	Carotenoides totais

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	16
2.	OBJETIVOS	18
2.1.	OBJETIVO GERAL	18
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1.	O GÊNERO <i>Eucalyptus</i> E SUA IMPORTÂNCIA	19
3.2.	O IMPACTO DA SALINIDADE SOBRE A PRODUTIVIDADE VEGETAL	23
3.3.	O SELÊNIO E SEU EFEITO NAS PLANTAS	26
3.4.	O USO DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i>	28
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
	CAPITULO 1 – EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE	39
	RESUMO.....	39
	ABSTRACT	41
1.	INTRODUÇÃO	42
2.	MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1.	MATERIAL VEGETAL	44
2.2.	DESIGN EXPERIMENTAL	46
2.3.	CRESCIMENTO	47
2.4.	BIOMASSA.....	47
2.5.	CONCENTRAÇÃO DE ÍONS NOS TECIDOS VEGETAIS	48
2.5.1.	Digestão nitroperclórica	48
2.5.2.	Diluição do extrato para macronutrientes.....	48
2.5.3.	Determinação de potássio (K)	48

2.5.4.	Determinação de cálcio (Ca)	49
2.5.5.	Determinação de sódio (Na)	49
2.6.	TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA Chl <i>a</i>	49
2.7.	TEOR DE PIGMENTOS	50
2.8.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	50
3.	RESULTADOS.....	51
3.1.	CRESCIMENTO	51
3.2.	BIOMASSA.....	52
3.3.	CONCENTRAÇÃO DE ÍONS NOS TECIDOS VEGETAIS	53
3.4.	FLUORESCÊNCIA DA Chl <i>a</i>	55
3.5.	TROCAS GASOSAS	56
3.6.	TEOR DE PIGMENTOS	58
4.	DISCUSSÃO	59
5.	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
	CAPÍTULO 2 – O SELÊNIO MELHORA O DESEMPENHO DO COMPLEXO ANTENA II E A CONSERVAÇÃO DE ENERGIA NO APARATO FOTOSSINTÉTICO DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES SALINAS	67
	RESUMO.....	67
	ABSTRACT	68
1.	INTRODUÇÃO	69
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	71
2.1.	MATERIAL VEGETAL E DESIGN EXPERIMENTAL.....	71
2.2.	TRATAMENTOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO	71
2.3.	MEDIDAS DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA <i>a</i>	72
2.4.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	74
3.	RESULTADOS.....	75
3.1.	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	75

3.2.	CURVA OJIP E TESTE-JIP.....	77
4.	DISCUSSÃO	83
5.	CONCLUSÃO	87
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
	APÊNDICES.....	91
	CAPITULO 1 – OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE	91

1. INTRODUÇÃO GERAL

O eucalipto (*Eucalyptus* L'Hér.) é uma cultura florestal, de ampla importância econômica, caracterizada pelo rápido crescimento e adaptabilidade. Os plantios da espécie são voltados para a produção de celulose, energia, madeira, óleos e outros produtos (STANTURF *et al.*, 2013). No mundo, as florestas plantadas de eucalipto correspondem a mais de 22,5 milhões de hectares e embora o Brasil possua cerca de 5,6 milhões de hectares de florestas plantadas de eucalipto (CUNHA *et al.*, 2021), a salinização dos solos tem sido apontada como uma das principais limitações ao cultivo da espécie em diversas partes do país, principalmente, nas regiões semiáridas (LACERDA, 2016).

As mudanças climáticas têm sido responsáveis pelo aumento de eventos que causam estresses abióticos, tais como altas temperaturas, fortes ventos, secas, inundações e salinização dos solos (SHEHATA e IBRAHIM, 2023). Dentre estes, a salinização dos solos se mostrou como um dos estresses abióticos mais devastadores, promovendo a redução de áreas cultiváveis e a queda da produtividade agrícola (SHRIVASTAVA e KUMAR, 2015). No cenário global, mais de 833 milhões de hectares são afetados pela salinidade (FAO, 2021) e não podem ser utilizados para agricultura e para produção florestal devido ao baixo rendimento produtivo (CISEAU; IPTRID; FAO AGLL, 2005; ZHANG *et al.*, 2018).

O estresse salino inibe o crescimento e desenvolvimento vegetal, impondo restrições como a redução do potencial hídrico, que compromete a capacidade de absorção das raízes, e o desequilíbrio iônico, ocasionado pelo excesso de íons Na^+ e Cl^- (ZHAO *et al.*, 2020). A redução do potencial hídrico somado ao acúmulo excessivo de Na^+ no citosol, induz o fechamento estomático e interfere negativamente sobre o aparato fotossintético (ZHAO *et al.*, 2020), podendo reduzir a área foliar, o teor de clorofila, a condutância estomática e a eficiência do FSII (SHRIVASTAVA e KUMAR, 2015).

Como alternativa para melhorar a produtividade em solos salinos, diversos métodos de recuperação, bem como o desenvolvimento de estratégias para controlar este problema vêm sendo desenvolvidas (SRIVASTAVA; WU; GIRI, 2016). Dentre elas estão o uso de substâncias exógenas para atenuar o estresse (FENG *et al.*, 2023) e a seleção de espécies e cultivares mais adequadas (DIAS *et al.*, 2016). Neste cenário, tem sido relatado que a aplicação de selênio (Se) em baixas concentrações têm promovido efeitos benéficos às plantas e é capaz de aumentar a tolerância aos mais diversos estresses abióticos, tais como: altas temperaturas, seca (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020), metais pesados (GUPTA e GUPTA, 2017), salinidade (JIANG *et al.*, 2017), dentre outros.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da aplicação de Se exógeno sobre a fisiologia de mudas de dois genótipos de eucalipto cultivados em condições salinas. Além disso, investigou-se como o Se age sobre o aparato fotossintético para atenuar os efeitos da salinidade. A presente tese foi dividida em dois capítulos. No primeiro, testou-se a hipótese de que a aplicação de Se exógeno poderia reduzir os efeitos do estresse salino em dois genótipos de eucalipto. O segundo capítulo surgiu após a confirmação da hipótese inicial e buscou entender onde e como a aplicação de Se age sobre o aparato fotossintético para atenuar os efeitos do estresse salino em plantas de eucalipto.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da aplicação de Se exógeno sobre o comportamento fisiológico de dois genótipos de eucalipto (*Eucalyptus urograndis* e *Eucalyptus urophylla*) cultivados ou não em condições salinas; e como a aplicação de Se exógeno age sobre o aparato fotossintético, durante a etapa fotoquímica.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar, durante 60 dias, os efeitos da aplicação de Se exógeno sobre o crescimento e o acúmulo de biomassa em plantas de dois genótipos de eucalipto, cultivados ou não em condições salinas;
- Determinar, após 60 dias, os efeitos da aplicação de Se exógeno sobre a concentração de íons K^+ , Na^+ e Ca^{2+} em diferentes tecidos vegetais (raiz, caule e folhas) nas plantas de dois genótipos de eucalipto, cultivados ou não em condições salinas;
- Avaliar, após 60 dias, os efeitos da aplicação de Se exógeno sobre as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* nas folhas de dois genótipos de eucalipto, cultivados ou não em condições salinas;
- Determinar, após 60 dias, os efeitos da aplicação de Se exógeno sobre o teor de pigmentos (clorofila *a*, *b*, total e carotenoides) nas folhas de dois genótipos de eucalipto, cultivados ou não em condições salinas;
- Investigar por meio da curva OJIP e do teste-JIP os sítios de atuação do Se na etapa fotoquímica;
- Identificar a dosagem de Se mais promissora em atenuar os efeitos da salinidade em plantas de eucalipto.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O GÊNERO *Eucalyptus* E SUA IMPORTÂNCIA

O consumo de produtos florestais cresce a cada ano e a produção de matérias primas a partir do cultivo de florestas plantadas podem reduzir a demanda por madeira proveniente de florestas nativas brasileiras (FERRAZ FILHO et al., 2018). Nesse contexto, as espécies do gênero *Eucalyptus* se destacam entre as mais cultivadas devido às suas características intrínsecas de rápido crescimento, alto rendimento madeireiro, grande capacidade de adaptação edafoclimática, tolerância a solos inférteis, potencial econômico e diversificação no uso de sua madeira (DOSSA et al. 2002; ZHANG e WANG, 2021; IBÁ, 2022).

O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae e é originário da Austrália, Tasmânia, Timor Leste e outras ilhas da Oceania (GIRIJASHANKAR, 2011; LORENZI; BACHER; TORRES, 2018). Popularmente conhecido como eucalipto, o gênero *Eucalyptus* é composto por mais de 800 espécies reconhecidas botanicamente (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023), além dos híbridos, e está entre as espécies florestais folhosas mais plantadas no mundo (GIRIJASHANKAR, 2011; FAO, 2020; ZHANG e WANG, 2021). No Brasil, as espécies mais plantadas nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste, onde o clima é predominantemente tropical, são: *E. grandis*, *E. saligna*, *E. urophylla*. Já na região sul do país, onde o clima é temperado, as espécies mais plantadas são *E. dunnii* e *E. viminalis* (SBS, 2005; PICHELLI e SOARES, 2019).

No cenário global, as áreas de florestas plantadas representam 7% de toda a área florestal do mundo e está estimada em 294 milhões de hectares (FAO, 2020). Destas, as áreas com plantio de eucalipto ultrapassam os 22 milhões de hectares e estão distribuídas em 95 países (ZHANG e WANG, 2021). A introdução do eucalipto no Brasil ocorreu em 1904 para atender às demandas de lenha, postes e dormentes das estradas de ferro da região sudeste. A partir de 1950, o eucalipto passou a ser utilizado como matéria prima na indústria de papel e celulose (DOSSA et al., 2002). Durante as décadas seguintes, houve um aumento expressivo das áreas de plantio devido aos incentivos fiscais e, em 1999, somaram 1,9 milhões de hectares (DOSSA et al., 2002). O potencial econômico aliado à adaptação edafoclimática e aos múltiplos usos do eucalipto como matéria prima, fez com que houvesse um crescimento exponencial das áreas de plantio que, atualmente, ultrapassam os 7,5 milhões de hectares (IBÁ, 2022). Contudo, a expansão de novas áreas de plantio têm esbarrado nas restrições ambientais provocadas pelas mudanças climáticas. Neste cenário, a possibilidade de expansão de florestas plantadas para regiões tradicionalmente não florestais estão entre os maiores desafios para o crescimento da

produção de eucalipto (REIS et al., 2021; CUNHA et al., 2021). Portanto, diante de tantos investimentos e incentivos fiscais associados do desenvolvimento produtivo da espécie, é importante avaliar quais são potenciais ameaças que as mudanças climáticas podem ocasionar aos plantios de eucalipto e como amenizá-las (BOOTH, 2013).

A falta de conhecimento técnico e de materiais genéticos altamente adaptados ou produtivos em condições edafoclimáticas específicas podem limitar a expansão das florestas plantadas, bem como sua produtividade (CUNHA et al., 2021). Diante disso, para reduzir estes desafios, diversos programas de melhoramento genético têm buscado identificar e selecionar os genótipos de melhor adaptabilidade para cada ambiente e, assim, replica-los em plantios clonais de alta produtividade (ROCHA et al., 2005).

O clone é resultado da propagação assexuada de plantas, onde a constituição genética da planta mãe se mantém inalterada. Já as cultivares clonais são o resultado de programas de melhoramento genético após a seleção dos melhores indivíduos para um conjunto de características (GONÇALVES et al., 2014). A seleção de cultivares com alto rendimento energético e adaptados às diferentes condições de estresses representam a base para a expansão de novas fronteiras florestais (CUNHA et al., 2021). As cultivares comerciais mais plantadas no Brasil, são: AEC 0144, AEC 0224, BA 6021, CO 1407, IBP13 e VCC 865 (GONÇALVES et al., 2014; DE ANDRADE et al., 2019; CASTRO FILHO et al., 2022). Com relação ao cultivo em condições salinas, estudos recentes têm destacado os mecanismos de tolerância de AEC 0144 e VCC 865 frente às outras cultivares como AEC 1528, AEC 0224 e CO 1407 (LACERDA, 2016; DE OLIVEIRA, 2018; DE ANDRADE et al., 2019). Contudo, ainda existem poucas informações acerca das técnicas de manejo de irrigação para eucalipto em condições salinas, bem como sobre a resposta de diferentes cultivares nestas condições (CASTRO FILHO et al., 2022).

A cultivar AEC 0144 (*Eucalyptus urophylla* S.T. Blake) surgiu a partir de material genético selecionado pela empresa Acesita, hoje ArcelorMittal S/A, em Minas Gerais (REIS et al., 2013) e está registrada no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sob nº 21874/2007. AEC 0144 é uma cultivar comercial amplamente difundida no Brasil por apresentar bons desempenhos de crescimento, volume, forma do fuste, desrama natural, espessura dos galhos, baixa presença ou ausência de bifurcações (REIS et al., 2013). Além disso, essa cultivar também apresenta, reconhecidamente, mecanismos de tolerância à seca (DAMBROZ e ALMEIDA, 2013) e a salinidade (DE ANDRADE et al., 2019). Ao revisar a literatura, contatou-se que além do nome de registro ‘AEC 0144’, esta cultivar tem sido

retratada, como: I144 (DE ANDRADE et al., 2019), I-144 (BACHA et al., 2017), AEC 144 (CASTRO FILHO et al., 2022), dentre outros.

A cultivar VCC 865 (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden x *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake) está registrada no MAPA sob o n° 22124/2007 pela empresa Veracel Celulose S/A. VCC 865 é um híbrido, desenvolvido no Brasil, resultante do cruzamento de *E. grandis* x *E. urophylla*, que apresenta um genótipo intermediário entre os pais puros. Portanto, apresenta características que permitem boa produtividade, maior resistência a pragas e doenças e maior adaptação aos ambientes secos e quentes, conferidos pelos genes de *E. urophylla*, e o maior crescimento e adequação à fabricação de papel e celulose, conferidos pelos genes de *E. grandis* (TORDIN, 2021). Ademais, essa cultivar também apresenta mecanismos de tolerância à seca (MÜLLER et al., 2017) e a salinidade (LACERDA, 2016; BEZERRA et al., 2020). Na literatura, esta cultivar também é tratada como ‘VC 865’ (XAVIER et al., 2019).

Eucalyptus grandis W. Hill (eucalipto-rosa), é uma árvore perenifólia, originária da Austrália, que pode atingir entre 20-40 m de altura. Possui tronco retilíneo, com casca pulverulenta. A ramagem é longa e robusta, formando copa aberta ou alongada. Apresenta folhas juvenis opostas, depois alternas, pecioladas. As folhas adultas são lanceoladas, falcadas, brilhantes, com ápice agudo e margens levemente onduladas, de 10-20 cm de comprimento, com pecíolo de 2-3 cm. Inflorescências em umbelas axilares, de pedúnculo achatado, com 6-12 flores brancas. Botões sésseis, com opérculo ligeiramente apiculado. Frutos piriformes, deiscentes, com valvas encurvadas, de cerca 7 mm de diâmetro. Muito semelhante ao *E. saligna*, distinguindo-se pelos botões e pelas valvas encurvadas das cápsulas. A propagação ocorre por sementes e por estacas. A espécie é adequada para reflorestamento e plantio em lugares inundados e fixação de barrancos de rios, devido às raízes profundas que possui (LORENZI; BACHER; TORRES, 2018). A madeira de *E. grandis* pode ser utilizada para produção de celulose, lenha, carvão, móveis, caixotaria, construção, dormentes, serraria e laminação (ANGELI, 2012; LORENZI; BACHER; TORRES, 2018).

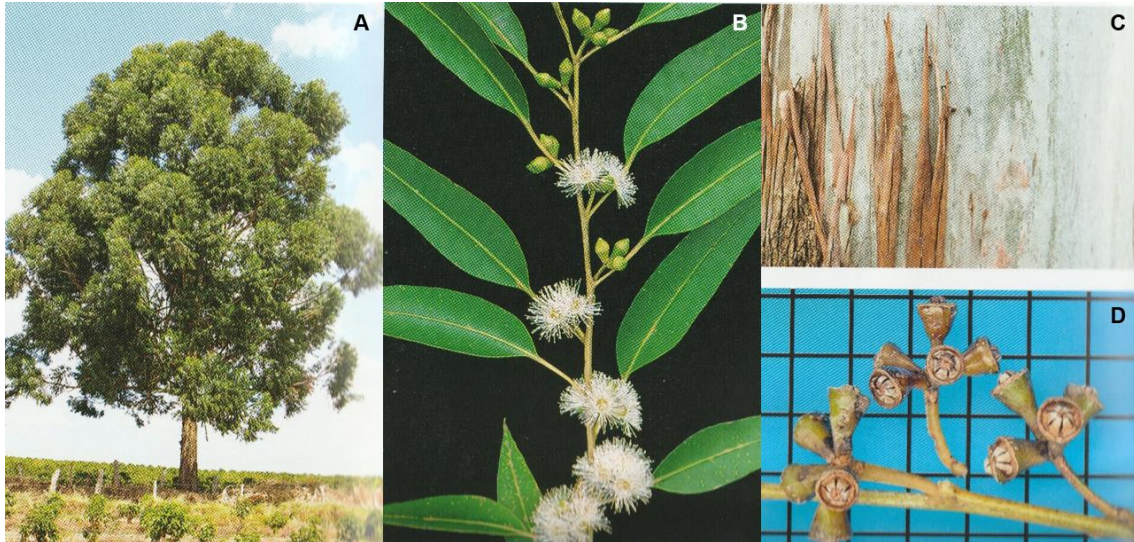


Figura 1: A: Indivíduo adulto de *Eucalyptus grandis*; B: folhas e flores; C: casca e tronco; e D: fruto.
Fonte: LORENZI; BACHER; TORRES (2018).

Eucalyptus urophylla S.T. Blake (eucalipto-tropical ou eucalipto-do-timor) é uma árvore perenifólia, originária do Timor Leste, que pode atingir entre 25-35 m de altura. Possui tronco ereto e cilíndrico, revestido por casca grossa dotada de fissuras longitudinais. A ramagem é oblíqua, formando copa alongada. Apresenta folhas jovens obovadas. As folhas adultas são oblanceoladas, coriáceas, discolores, com a nervura principal destacada, de 10-19 cm de comprimento, com pecíolo de 1,5-2,2 cm. Inflorescências axilares em umbelas simples, com pedúnculo de 1,5 cm, com 5-7 flores de estames brancos. Frutos deiscentes. A propagação ocorre exclusivamente por sementes. Apesar de sua origem tropical, tolera o clima subtropical seco, podendo ser cultivada em toda a região sudeste do Brasil (LORENZI; BACHER; TORRES, 2018). A madeira de *E. urophylla* pode ser utilizada para produção de celulose, lenha, carvão e serraria (ANGELI, 2012; LORENZI; BACHER; TORRES, 2018).

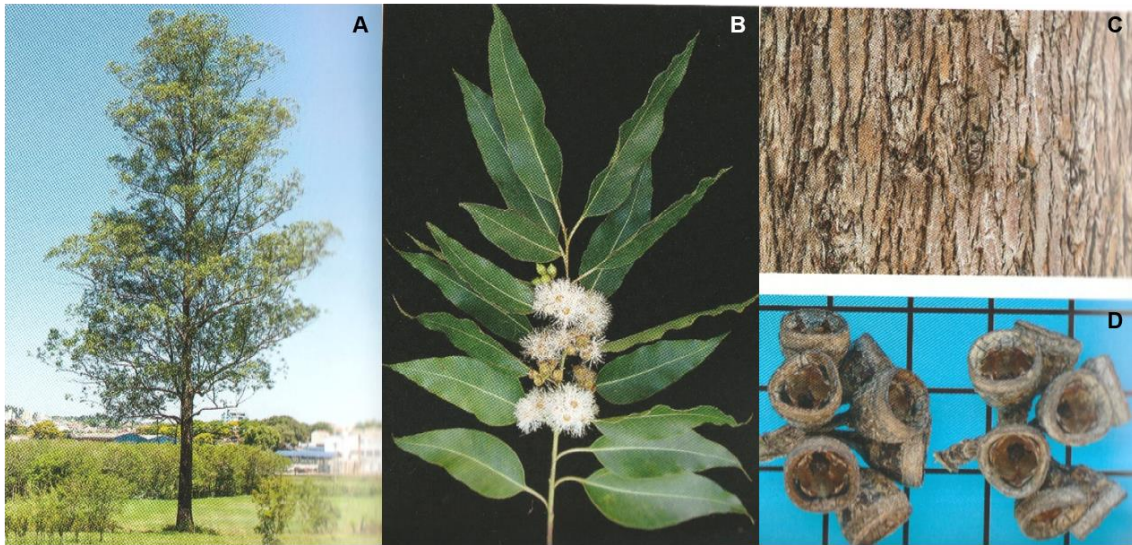


Figura 2: A: Indivíduo adulto de *Eucalyptus urophylla*; B: folhas e flores; C: casca e tronco; e D: fruto.
Fonte: LORENZI; BACHER; TORRES (2018).

3.2. O IMPACTO DA SALINIDADE SOBRE A PRODUTIVIDADE VEGETAL

A salinização afeta mais de 833 milhões de hectares em todo o mundo (FAO, 2021). Os solos com altos teores de sais, isto é, íons minerais em altas concentrações, são denominados salinos (TAIZ et al., 2017) e não podem ser utilizados para agricultura e para produção florestal devido ao baixo rendimento produtivo (CISEAU; IPTRID; FAO AGLL, 2005; ZHANG et al., 2018). As mudanças climáticas, responsáveis pelo aumento da temperatura e redução da precipitação, estão contribuindo para o aumento de solos com alta concentrações de sais (DEL BUONO, 2021). Além disso, o manejo inadequado da irrigação e a aplicação excessiva de fertilizantes minerais também têm sido responsáveis por aumentar a concentração de sais nos solos e reduzir as áreas cultiváveis (FAO, 2021). Dentre as áreas mais afetadas pelo processo de salinização estão as regiões áridas, semiáridas e costeiras (CISEAU; IPTRID; FAO AGLL, 2005).

A alta concentração de sais no solo limita a disponibilidade de água e inibe o crescimento vegetal. O excesso de sais solúveis no solo, como Na^+ e Cl^- , reduzem seu potencial osmótico, podendo atingir níveis em que as plantas não terão condições suficientes para superar o potencial osmótico e absorver água, mesmo que o solo esteja úmido. Esse fenômeno é conhecido como seca fisiológica (DIAS et al., 2016). Além disso, o acúmulo de íons no solo como Na^+ e Cl^- interferem na absorção de nutrientes e provocam a citotoxicidade (TAIZ et al., 2017). Dentre os principais transtornos fisiológicos e bioquímicos causados pela salinidade, estão: (1) redução do potencial hídrico, (2) desidratação celular, (3) citotoxicidade iônica, (4) redução da expansão celular/foliar, (5) redução das atividades celulares e metabólicas, (6)

fechamento estomático, (7) inibição fotossintética, (8) abscisão foliar, (9) desestabilização de membranas e proteínas, (10) produção de ERO – Espécies Reativas de Oxigênio, (11) cavitação e (12) morte celular (TAIZ et al., 2017). Em resumo, o efeito da salinidade sobre as plantas é consequência do componente osmótico, que provoca déficit hídrico, e do componente iônico, que altera a relação K^+/Na^+ e promove o desequilíbrio nutricional (WILLADINO e CAMARA, 2010).

A raiz é o órgão responsável pela percepção de sal no ambiente e por formar a primeira linha de defesa contra os danos ocasionados pelo estresse salino (JI et al., 2013). Em geral, as raízes tendem a manter níveis constantes de Na^+ e Cl^- , pois exportam esses íons para o solo ou para a parte aérea. As folhas, por outro lado, acumulam maiores concentrações destes íons, transportados pela corrente transpiratória no xilema, e são mais vulneráveis ao excesso Na^+ e Cl^- (WILLADINO e CAMARA, 2010). Plantas mais sensíveis à salinidade podem apresentar injúrias nas folhas mais velhas que tendem a evoluir para queima das bordas e do ápice, devido ao acúmulo de íons Na^+ e Cl^- , que aumentam de acordo com o prolongamento do período de exposição (WILLADINO e CAMARA, 2010). Já a toxicidade iônica ocorre quando os íons presentes na água de irrigação ou no solo se acumulam em excesso no tecido vegetal, promovendo o desbalanceamento osmótico celular e, conseqüentemente, danos ao citoplasma (DIAS et al., 2016). Neste cenário, o estresse salino, promovido pelo acúmulo de sais, têm afetado negativamente o crescimento, a síntese dos pigmentos fotossintéticos, a fluorescência e as trocas gasosas (LACERDA, 2016; JIANG et al., 2017; DE OLIVEIRA et al., 2018). Os íons comumente associados à salinidade são: Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} e HCO_3^- , entretanto, Na^+ e Cl^- são considerados os mais importantes (SAFDAR et al., 2019). Por isso, para simular o estresse salino em condições experimentais, normalmente, utiliza-se como soluto o NaCl, já que os íons Na^+ e Cl^- são os mais frequentes no processo de salinização dos solos e considerados os principais a dificultar o metabolismo da planta (NOBRE et al., 2010).

A exposição à salinidade leva ao fechamento estomático, limita a fotossíntese e afeta a síntese de pigmentos como clorofilas e carotenoides, bem como a atividade de diversas enzimas estomáticas envolvidas na redução do dióxido de carbono (CO_2) (KWON; MEKAPOGU; KIM, 2019; HNILICKOVA et al., 2021). Além disso, frequentemente ocorrem estresses secundários, que promovem distúrbios metabólicos e acabam desencadeando danos oxidativos e aumentando a produção de ERO (SAFDAR et al., 2019; HE et al., 2020). Por fim, a salinidade também reflete em alterações anatômicas e morfológicas, como o aumento na densidade de tricomas e a redução na altura, área foliar total, taxa de germinação e densidade estomática (KWON; MEKAPOGU; KIM, 2019).

Para lidar com o estresse salino, as plantas desenvolveram adaptações metabólicas e fisiológicas que se baseiam, principalmente, (1) na limitação da entrada de sal pelas raízes e (2) no controle de sua concentração e distribuição (KHAN et al., 2018; LING et al., 2020). No entanto, a exclusão de Na^+ pelas células radiculares é a principal resposta de proteção das plantas, pois retarda os efeitos tóxicos provocados pelo excesso de Na^+ no citoplasma. Portanto, para assegurar a manutenção do turgor e da entrada de água, faz-se necessário o ajuste osmótico da célula vegetal (WILLADINO e CAMARA, 2010). Para manter a homeostase celular, as plantas podem reduzir o acúmulo de íons tóxicos (Na^+ e Cl^-) ou aumentar a absorção de íons de combate como K^+ e Ca^{2+} (KHAN et al., 2018). Um dos primeiros sinais de resposta desencadeados pelo excesso de Na^+ incluem a alteração dos níveis intracelulares de Ca^{2+} , que se acumula no citosol, e atua como um importante mensageiro secundário do estresse salino (ZHAO et al., 2021).

A via mais importante para regular a adaptação da planta ao estresse salino é conhecida como via de sinalização SOS – *Salt Overly Sensitive* (JI et al., 2013). Essa via regula a homeostase iônica através da modulação dos transportadores de Na^+/H^+ do tipo antiporte, durante o estresse salino, que transportam Na^+ em troca de H^+ (TAIZ et al., 2017; ZHAO et al., 2021). Os transportadores Na^+/H^+ do tipo antiporte localizados na membrana plasmática transportam Na^+ para o apoplasto ao passo que os localizados no vacúolo são responsáveis por manter a compartimentação do Na^+ nos vacúolos (ZHAO et al., 2021).

Quanto à tolerância a salinidade, as plantas podem ser classificadas como halófitas e glicófitas. As halófitas são plantas adaptadas aos ambientes de alta salinidade e que, em alguns casos, podem se beneficiar do excesso de Na^+ . Já as plantas glicófilas, grupo ao qual a maioria das plantas cultivadas pertencem, são menos tolerantes aos efeitos dos sais (DIAS et al., 2016; TAIZ et al., 2017). Neste sentido, as plantas halófitas e glicófitas lidam com o excesso de salinidade de formas diferentes (SAFDAR et al., 2019). Muitas espécies glicófitas, por exemplo, removem os sais dos tecidos fotossintéticos e das raízes, retendo-os principalmente no caule (JI et al., 2013). Como são organismos sésseis, as plantas precisam desenvolver diversas estratégias para se adaptar aos ambientes salinos e essas estratégias vão desde a detecção do estresse salino até a expressão de genes capazes de regular o transporte de íons, homeostase osmótica e desintoxicação (ZHAO et al., 2021).

Uma vez que as espécies glicófitas constituem o grupo de maior interesse econômico e são responsáveis pelo suprimento alimentício e de matérias primas, diversas estratégias estão sendo desenvolvidas para aumentar a tolerância das plantas glicófitas à salinidade (SAFDAR et al., 2019), incluindo o uso de substâncias exógenas para atenuar o estresse (JIANG et al.,

2017), uso de microrganismos benéficos (LING et al., 2020), regulação de genes envolvidos nas respostas ao estresse salino (HU et al., 2008), uso de fitohormônios como o ácido abscísico (DAR et al., 2017). Portanto, compreender os mecanismos pelos quais as plantas regulam o estresse salino é fundamental para obter informações de como aumentar a tolerância das plantas ao estresse salino e melhorar a produtividade das culturas (ZHAO et al., 2021).

3.3. O SELÊNIO E SEU EFEITO NAS PLANTAS

O selênio foi descoberto acidentalmente pelo químico sueco Jöns Jacob Berzelius em 1817 (BODNAR et al., 2012) e seu nome vem do grego “Selene” que significa “Lua” (TERRY et al., 2000). O selênio é um ametal de símbolo ‘Se’ e número atômico 34, que pertence ao grupo 16 da tabela periódica (calcogênios), juntamente com oxigênio, enxofre, telúrio, polônio e livermório (PERRONE; MONTEIRO; NUNES, 2015; DAY, 2016). Na natureza, o selênio raramente ocorre em seu estado elementar e, geralmente, é encontrado em minérios de sulfeto onde substitui parcialmente o enxofre (PERRONE; MONTEIRO; NUNES, 2015).

O selênio e o enxofre são quimicamente muito semelhantes, embora o átomo de selênio seja um pouco maior (TERRY et al., 2000). A grande semelhança entre estes elementos faz com que a maioria das plantas não consigam diferencia-los e acabem incorporando selênio em todos os compostos de enxofre (PILON-SMITS, 2014). Por exemplo, SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} são análogos a SO_3^{2-} e SO_4^{2-} , respectivamente, e compartilham um caminho semelhante de absorção e translocação nas plantas (HASANUZZAMAN et al., 2020). Após a absorção, o selênio pode ser assimilado pela via de assimilação do sulfato em selenocisteína (SeCys), selenometionina (SeMet) e outros compostos orgânicos de enxofre (PILON-SMITS, 2014). Em outras palavras, o selênio compete com o enxofre pela participação em reações bioquímicas (BROWN e SHRIFT, 1982).

Por muito tempo, o selênio foi considerado um elemento tóxico até que em 1957, foi comprovado como essencial ao metabolismo de mamíferos e outros animais (SCHWARZ e FOLTZ, 1957; FENG, WEI; TU, 2012). Apesar disso, sua essencialidade como micronutriente em plantas superiores ainda não está clara e permanece controversa (TERRY et al., 2000; GUPTA e GUPTA, 2017; HASANUZZAMAN et al., 2020). Embora as plantas superiores não necessitem de selênio e tenham uma baixa tolerância a ele, há indicações crescentes de que o selênio também pode ter funções biológicas benéficas em plantas superiores (XUE; HARTIKAINEN; PIIRONEN, 2001). Neste cenário, muitos estudos têm apontado que, em quantidade adequadas, o selênio pode atuar não somente como um elemento benéfico ao

metabolismo vegetal estimulando o crescimento e rendimento das plantas (PILON-SMITS, 2014; JIANG et al., 2017), mas também conferindo tolerância a diferentes estresses abióticos incluindo salinidade, seca, calor e metais pesados (HASANUZZAMAN et al., 2020).

Diante disso, estudos recentes têm buscado avaliar o efeito da aplicação de selênio exógeno em plantas sob condições de estresse (AZIZI et al., 2020) e os resultados tem sido promissores. Em mudas de *Brassica napus* L. (Brassicaceae) estressadas com cádmio, a aplicação de 2 μM de selênio foi capaz de proporcionar um aumento na manutenção da estrutura e fluidez do cloroplasto (FILEK et al., 2010). Em outro estudo, a aplicação de 1 μM de selênio em mudas de *Zea mays* L. (Poaceae) estressadas com NaCl, proporcionou uma melhora no crescimento, fotossíntese e biomassa (JIANG et al., 2017). Por fim, a aplicação de 8 μM de selênio em plantas de *Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae) sob estresse de alta temperatura, foi capaz de aumentar o nível de osmólitos e defesa do sistema antioxidante e, dessa forma, reduzir o dano à membrana plasmática (BALAL et al., 2016).

Ainda que os mecanismos pra esses efeitos benéficos não estejam completamente elucidados (PILON-SMITS, 2014) é sabido que na célula vegetal, o cloroplasto é o local inicial do metabolismo do selênio por meio da ação das enzimas anabólicas SO_4^{2-} (GUPTA e GUPTA, 2017; HASANUZZAMAN et al., 2020). Ademais, os mecanismos de proteção parecem reduzir os danos causados ao cloroplasto (FENG; WEI; TU, 2012) e envolvem o aumento na síntese de pigmentos fotossintéticos, taxa fotossintética, trocas gasosas, acúmulo de osmoprotetores e metabólitos secundários (HASANUZZAMAN et al., 2020).

Por outro lado, o excesso de selênio pode promover redução de crescimento, clorose, murchamento e ressecamento das folhas, diminuição da síntese de proteínas, lesões e morte prematura da planta (TERRY et al., 2000). Da mesma forma, tem sido documentado por meio do monitoramento da fluorescência da clorofila *a* que o excesso de selênio afeta a absorção, captura e transporte de elétrons no FSI e FSII, bem como prejudica o complexo de evolução do oxigênio (FENG; WEI; TU, 2012). O excesso de selênio também pode alterar o equilíbrio mineral das plantas, causando alterações na composição quantitativa de nutrientes essenciais, além de interagir com os nutrientes existentes nos tecidos e interromper os processos fisiológicos que eles regulam (HASANUZZAMAN et al., 2020). A toxicidade causada pelo excesso de selênio, também denominada de selenose, ocorre nas plantas por meio de dois mecanismos: (1) a formação de selenoproteínas, isto é, a incorporação incorreta de SeCys/SeMet ao invés de Cys/Met na cadeia proteica e (2) indução do estresse oxidativo, ambos conhecidos por serem prejudiciais as plantas (GUPTA e GUPTA, 2017).

Ante o exposto, até o momento não se sabe se o selênio é um elemento essencial para plantas ou não (HASANUZZAMAN et al., 2020). Da mesma forma, ainda existem muitas faces da aplicação de selênio que precisam ser elucidadas, tal como o mecanismo exato por trás dos efeitos benéficos da aplicação de baixas doses de selênio que permanecem inexplicados (GUPTA e GUPTA, 2017). Estes questionamentos são ainda mais vagos para espécies florestais, uma vez que o foco das pesquisas com selênio tem sido direcionado sob a perspectiva de espécies alimentícias (FILEK et al., 2010; BALAL et al., 2016; JIANG et al., 2017).

3.4. O USO DA FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*

A clorofila (Chl) é um pigmento capaz de absorver o espectro de luz, principalmente, na faixa de 430 e 660 nm (Figura 3A) que correspondem, respectivamente, as regiões do azul e vermelho (TAIZ et al., 2017). No momento em que absorve luz, a Chl passa do estado de menor energia (estado-base) para o estado de maior energia (estado excitado), o qual é extremamente instável (Figura 3B). Para retornar ao seu estado base, a Chl excitada pode: (1) converter de forma direta a energia em calor, sem emissão de um fóton; (2) participar na transferência de energia para outras moléculas; (3) utilizar essa energia para promover a ocorrência de reações químicas, pelo processo de fotoquímica; e (4) reemitir um fóton, convertendo apenas uma parte em calor antes da emissão de um fóton fluorescente na cor vermelha (≈ 695 nm), pelo processo conhecido como fluorescência (TAIZ et al., 2017).

Em cloroplastos funcionais, a produtividade quântica da fotoquímica é aproximadamente 95%, ao passo que a produtividade quântica da fluorescência é de 5% ou menos (TAIZ et al., 2017). Apesar disso, é amplamente aceito que a fluorescência da Chl *a* é capaz de fornecer informações valiosas acerca da estrutura e função no aparato fotossintético, sendo reconhecida como a uma “assinatura” da fotossíntese (PAPAGEORGIOU e GOVINDJEE, 2004). Em outras palavras, embora represente apenas uma pequena parcela de toda energia absorvida, a fluorescência da Chl *a* é inversamente proporcional à energia utilizada na fotossíntese e, por isso, pode ser utilizada para avaliar a atividade fotossintética das plantas (KALAJI et al., 2017).

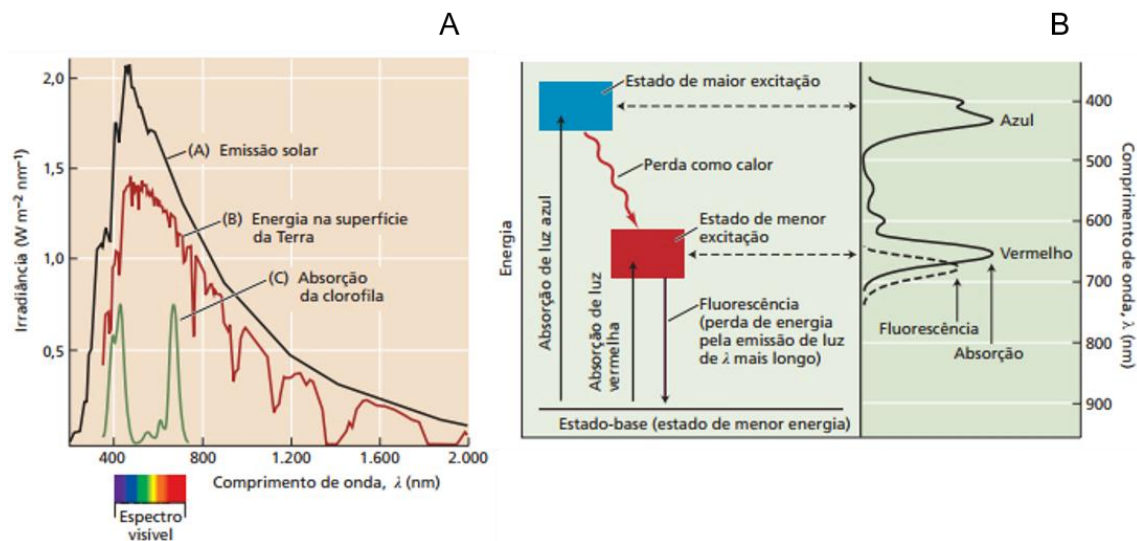


Figura 3: A: O espectro solar e sua relação com o espectro de absorção da clorofila. A curva A representa a emissão de energia pelo sol em função do comprimento de onda. A curva B é a energia que atinge a superfície da Terra. A curva C é o espectro de absorção da clorofila. B: Absorção e emissão de luz pela clorofila. À esquerda, a absorção ou emissão de luz é indicada pelas linhas verticais que conectam o estado-base com os estados excitados dos elétrons. As bandas de absorção da clorofila no azul e no vermelho (que absorvem fótons azuis e vermelhos, respectivamente) correspondem às setas verticais para cima, significando que a energia absorvida da luz provoca uma alteração na molécula do estado-base para um estado excitado. A seta que aponta para baixo indica fluorescência, em que a molécula vai do estado de menor excitação para o estado-base, reemitindo energia na forma de fótons. À direita, estão os espectros de absorção nos comprimentos de onda curto (azul) e longo (vermelho), bem como o comprimento de onda da fluorescência na cor vermelha (Fonte: TAIZ et al., 2017).

A fluorescência da Chl em folhas verdes foi observada pela primeira vez em 1931, a olho nu, por Kautsky e Hirsch após iluminarem tecidos fotossintetizantes previamente adaptados ao escuro, com uma luz actínia saturante (TSIMILLI-MICHAEL, 2020; LICHTENTHALER, 2021). Desta forma, Kautsky e Hirsch perceberam que a transição do escuro para a luz era caracterizada por um rápido aumento da fluorescência, seguido de uma diminuição lenta para uma fluorescência de estado estacionário muito baixa (LICHTENTHALER; BUSCHMANN; KNAPP, 2005; LICHTENTHALER, 2021). Mais tarde, esse processo foi descrito como sendo a cinética de indução a fluorescência da Chl, também chamado de fluorescência transiente ou ainda, em homenagem à primeira publicação deste fenômeno tão relevante, de efeito Kautsky (KALAJI et al., 2017). A Figura 4A apresenta os estágios da cinética de fluorescência da Chl (estágio 1: fase crescente e estágio 2: fase decrescente) em função do tempo de irradiação. Já a Figura 4B apresenta de maneira visual a fluorescência da Chl, registrada pela fotografia de Eugene Maksimov e Maria Maksimova.

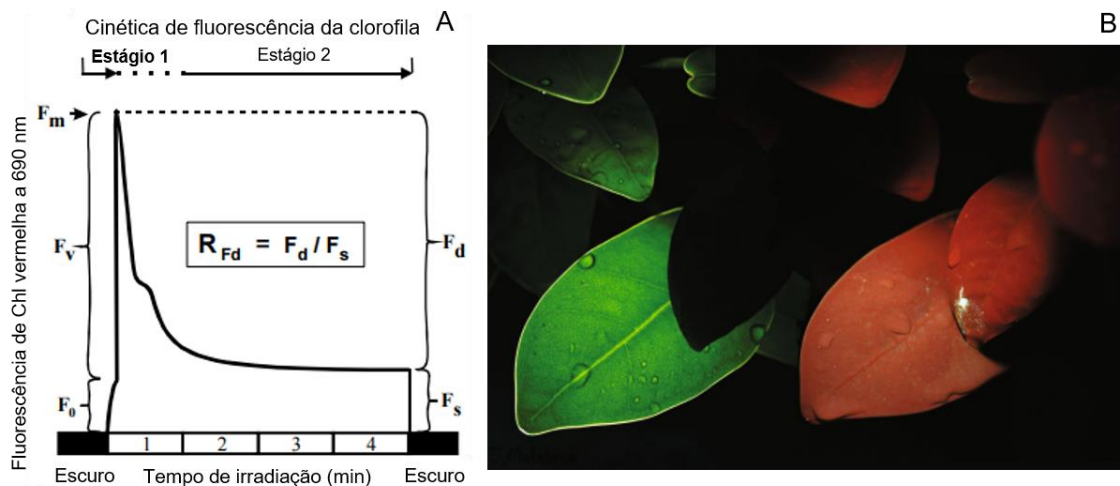


Figura 4: A: F_0 = fluorescência inicial, F_v = fluorescência variável; F_m = fluorescência máxima, F_d = decréscimo da fluorescência, F_s = fluorescência de estado estacionário; R_{F_d} = taxa de decréscimo da fluorescência (Fonte: LICHTENTHALER; BUSCHMANN; KNAPP, 2005). B: Fotografia de Eugene Maksimov e Maria Maksimova, tirada em um quarto escuro, mostrando folhas verdes e folhas com fluorescência vermelha de *Ficus microcarpa* (Fonte: STIRBET et al., 2014).

Conforme mencionado, a cinética de indução a fluorescência é composta por uma fase crescente e uma fase decrescente. Na fase crescente, a iluminação induz o aumento da fluorescência do ponto de origem (O; *origin*) até o pico (P; *peak*), seguida por uma fase decrescente denominada fase estacionária (S; *steady*) (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004). No entanto, em 1992 Strasser e Govindjee, utilizando o fluorômetro PEA – *Plant Efficiency Analysers* (Hansatech Instruments, UK), descobriram que a fase O-P, na verdade, não era monofásica e revelaram a existência de dois passos intermediários, a saber: ‘J’ (2 ms) e ‘I’ (30 ms) e, portanto, a curva de fluorescência passou a possuir as fases O-J, J-I e I-P e a ser denominada como curva OJIP (TSIMILLI-MICHAEL, 2020). Em alguns casos, fatores de estresse como alta temperatura, luminosidade e seca podem promover a formação da outros picos na curva de indução a fluorescência (KALAJI et al., 2014) como, por exemplo, na faixa de 150 μ s (banda-L), 300 μ s (banda-K), 20 ms (banda-H) e 100 ms (banda-G), os quais geralmente estão ocultos entre os passos O-J-I-P dos transientes originais e podem ser detectados por meio da diferença de transientes adequadamente normalizados (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2008). A Figura 5 apresenta uma curva OJIP típica, seguida pela fase estacionaria (S), registrada ao longo de 1 s de iluminação por saturação de luz vermelha (650 nm; μ mol fótons $m^{-2} s^{-1}$) em uma amostra de folha, previamente adaptada ao escuro.

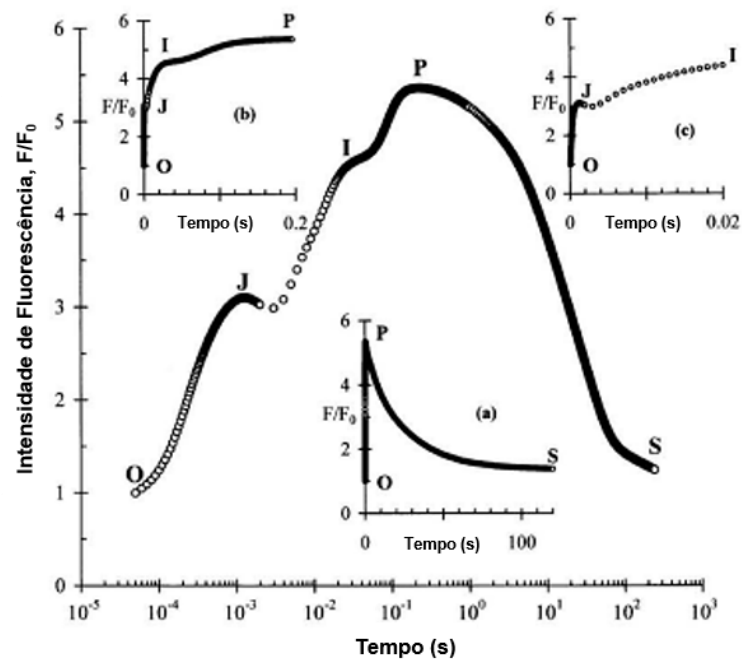


Figura 5: Curva OJIP típica (seguida por um declínio para o estado estacionário; S), em escala de tempo logarítmica, registrada ao longo de 1 s de iluminação por saturação de luz vermelha (650 nm; $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em uma amostra de folha previamente adaptada ao escuro. As inserções mostram o mesmo transiente em diferentes escalas de tempo lineares: (a; centro) até 120 s, (b; canto superior esquerdo) até 200 ms e (c; canto superior direito) até 20 ms. Fonte: STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA (2004).

O entendimento convencional do transiente OJIP é baseado na hipótese elaborada em 1963 por Duysens e Sweers, a qual assume que o rendimento da fluorescência é controlado por um aceptor de elétrons no FSII que também atua como *quenching* de fluorescência – mais tarde identificado como Q_A em seu estado oxidado (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004; STIRBET e GOVINDJEE, 2011; STIRBET et al., 2014). Em outras palavras, a fluorescência emitida por uma unidade de FSII após a iluminação, que excita o LHCII, é determinada pelo equilíbrio redox do seu aceptor primário Q_A : (1) quando Q_A está no estado oxidado, portanto, o centro de reação (RC) está aberto e pode realizar fotoquímica (fluorescência baixa); (2) quando Q_A está no estado reduzido (Q_A^-), portanto, o RC está fechado e não pode realizar fotoquímica (fluorescência alta) (TSIMILLI-MICHAEL, 2020).

Em 1995, com base na teoria do fluxo de energia em biomembranas, foi criado o teste-JIP o qual traduz a curva OJIP em parâmetros biofísicos (STRASSER e STRASSER, 1995) e provou ser uma ferramenta bastante útil para avaliar o comportamento adaptativo do aparato fotossintético e, especialmente, do FSII (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004). A grande relevância do FSII para estes estudos ocorre porque a fluorescência da Chl *a* emitida por plantas, em temperatura ambiente, origina-se quase que exclusivamente do FSII (TSIMILLI-MICHAEL, 2020), ou seja, embora a fluorescência do FSI não seja zero é praticamente desprezível (TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2013).

No presente, é amplamente aceito e comprovado que a análise de fluorescência da Chl *a* é uma ferramenta simples, não destrutiva, barata e rápida para avaliar o impacto dos fatores de estresse sobre o aparato fotossintético (PAPAGEORGIOU e GOVINDJEE, 2004; TSIMILLI-MICHAEL e STRASSER, 2013). Diante disso, pesquisadores de diversas áreas, tais como: biotecnologia, ecofisiologia, fisiologia vegetal, silvicultura e, até mesmo, agricultores vêm utilizando as técnicas de fluorescência da Chl *a*, como a curva OJIP e o teste-JIP, para avaliar o funcionamento do aparato fotossintético e, quando possível, detectar a ocorrência de fatores de estresse antes mesmo que os sintomas visuais como necrose, clorose e murcha sejam perceptíveis (KALAJI et al., 2014).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELI, A. **Indicações para escolha de espécies de Eucalyptus**. Disponível em: <<http://www.ipef.br/identificacao/eucalyptus/indicacoes.asp>>. Acessado em 29 de maio 2023.
- AZIZI, I.; ESMAIELPOUR, B.; FATEMI, H. Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (*Satureja hortensis*) under cadmium stress. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 12, p. 6539-6549, 2020.
- BACHA, A. L.; MARTINS, P. F. R. B.; ALVES, P. L. C. A.; PAULA, R. C. Effect of trinexapac-ethyl, at two application timings, on the initial development of *Eucalyptus* under water deficit. **Planta Daninha**, v. 37, 2019.
- BALAL, R. M.; SHAHID, M. A.; JAVAID, M. M.; IQBAL, Z.; ANJUM, M. A.; GARCIA-SANCHEZ, F.; MATTSON, N. S. The role of selenium in amelioration of heat-induced oxidative damage in cucumber under high temperature stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, p. 1-14, 2016.
- BEZERRA, Lucas Teles et al. Trocas gasosas de clones de Eucalipto cultivados em solo com diferentes níveis de salinidade. In: **Engenharia Florestal: desafios, limites e potencialidades**. OLIVEIRA, Robson José de (Org.). Guarujá-SP: Editora Científica Digital, 2020.
- BODNAR, M.; KONIECZKA, P.; NAMIESNIK, J. The properties, functions, and use of selenium compounds in living organisms. **Journal of Environmental Science and Health, Part C**, v. 30, n. 3, p. 225-252, 2012.
- BOOTH, T. H. Eucalypt plantations and climate change. **Forest ecology and management**, v. 301, p. 28-34, 2013.
- BROWN, T. A.; SHRIFT, A. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. **Biological Reviews**, v. 57, n. 1, p. 59-84, 1982.
- CASTRO FILHO, M. N. D.; TAGLIAFERRE, C.; OLIVEIRA, F. D. S.; SILVA, B. L. D.; ALVES, R. O.; PAULA, A. D.; BARROS, F. M. BIOMASS OF TWO *Eucalyptus* CLONES (*E. grandis* × *E. urophylla*) IRRIGATED WITH SALINE WATER. **Revista Árvore**, v. 46, 2022.
- CISEAU, IPTRID; AGLL, FAO. Management of irrigation-induced salt-affected soils. **International Programme for Technology and Research in Irrigation and Drainage (IPTRID)**. Rome, Italy, 2005.
- DAMBROZ, G. B. V.; ALMEIDA, M. N. F. de. Densidade da madeira do clone AEC144 no Brasil. **Revista Opiniões**, 2013. Disponível em: <<https://florestal.revistaopinioes.com.br>>, Acesso em 13 abr. 2023.
- DAR, N. A.; AMIN, I.; WANI, W.; WANI, S. A.; SHIKARI, A. B.; WANI, S. H.; MASOODI, K. Z. Abscisic acid: A key regulator of abiotic stress tolerance in plants. **Plant gene**, v. 11, p. 106-111, 2017.
- DE ANDRADE, J. R.; JÚNIOR, S. D. O. M.; DA SILVA SANTOS, A. F.; DA SILVA, V. M.; BEZERRA, L. T.; DA SILVA, J. R. R.; DOS SANTOS, C. M.; FERREIRA, V. M.; ENDRES, L. Photosynthetic performance in *Eucalyptus* clones cultivated in saline soil. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 368-379, 2019.

DE OLIVEIRA, V. P.; LIMA, M. D. R.; DA SILVA, B. R. S.; BATISTA, B. L.; DA SILVA LOBATO, A. K. Brassinosteroids confer tolerance to salt stress in *Eucalyptus urophylla* plants enhancing homeostasis, antioxidant metabolism and leaf anatomy. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, p. 557-573, 2019.

DAY, K. Uuh? No. It's livermorium!. **Nature Chemistry**, v. 8, n. 9, p. 896-896, 2016.

DEL BUONO, D. Can biostimulants be used to mitigate the effect of anthropogenic climate change on agriculture? It is time to respond. **Science of the Total Environment**, v. 751, p. 141763, 2021.

DIAS, N. S.; BLANCO, F. F.; SOUZA, E. R.; FERREIRA, J. F. S.; NETO, O. N. S.; QUEIROZ, Í. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade (Salinity effects on plants and tolerance of crops to salinity). Book Chapter, p. 151-162, 2016.

DOSSA, D.; SILVA, H. D.; BELLOTE, A. F. J.; RODIGHERI, H. R. Comunicado técnico: produção e rentabilidade do eucalipto em empresas florestais. **Embrapa Florestas**, Paraná. 2002.

FAO - **Food and agriculture organization of the united nations**. 2020. Global Forest Resources Assessment 2020: Main report. Rome. Disponível em: <<https://doi.org/10.4060/ca9825en.pdf>>, Acesso em: 13 abr. 2023.

FAO - **Food and agriculture organization of the united nations**. 2021. World map of salt-affected soils launched at virtual conference. Rome. Disponível em: <<https://www.fao.org/newsroom/detail/salt-affected-soils-map-symposium/en>>, Acesso em: 20 maio 2023.

FENG, Di et al. Heavy metal stress in plants: Ways to alleviate with exogenous substances. **Science of The Total Environment**, p. 165397, 2023.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and experimental botany**, v. 87, p. 58-68, 2013.

FERRAZ FILHO, A. C.; MOLA-YUDEGO, B.; GONZÁLEZ-OLABARRIA, J. R.; SCOLFORO, J. R. S. Thinning regimes and initial spacing for *Eucalyptus* plantations in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 255-265, 2018.

FILEK, M.; GZYL-MALCHER, B.; ZEMBALA, M.; BEDNARSKA, E.; LAGGNER, P.; KRIECHBAUM, M. Effect of selenium on characteristics of rape chloroplasts modified by cadmium. **Journal of plant physiology**, v. 167, n. 1, p. 28-33, 2010.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Eucalyptus* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB614473>>. Acesso em: 24 abr. 2023.

GIRIJASHANKAR, V. Genetic transformation of *Eucalyptus*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 17, p. 9-23, 2011.

GONÇALVES; E. O.; MATHEUS, M. T.; ABAD, J. I. S.; CALDEIRA, M. V. W.; SILVA, A. G. Mudas Originadas de Sementes x Mudas Originadas de Clones. In: SILVA, E. N.; FIELDER, N. C.; PEREIRA, D. P.; DE PAULA, M. O. **Florestas de Produção**: Viçosa, MG: Suprema, 2014. p. 21-35.

GUPTA, M.; GUPTA, S. An overview of selenium uptake, metabolism, and toxicity in plants. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 2074, 2017.

HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. B.; RAZA, A.; HAWRYLAK-NOWAK, B.; MATRASZEK-GAWRON, R.; AL MAHMUD, J.; NAHAR, K.; FUJITA, M. Selenium in plants: Boon or bane?. **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, p. 104170, 2020.

HAWRYLAK-NOWAK, B. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. **Biological trace element research**, v. 132, p. 259-269, 2009.

HE, Y., ZHOU, J., HU, Y., FANG, C., YU, Y., YANG, J.; ZHU, B., RUAN, Y., ZHU, Z. Overexpression of sly-miR398b increased salt sensitivity likely via regulating antioxidant system and photosynthesis in tomato. **Environmental and Experimental Botany**, v. 181, p. 104273, 2021.

HNILICKOVA, H.; KRAUS, K.; VACHOVA, P.; HNILICKA, F. Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. **Plants**, v. 10, n. 5, p. 845, 2021.

HU, H.; YOU, J.; FANG, Y.; ZHU, X.; QI, Z.; XIONG, L. Characterization of transcription factor gene SNAC2 conferring cold and salt tolerance in rice. **Plant molecular biology**, v. 67, p. 169-181, 2008.

JIANG, C.; ZU, C.; LU, D.; ZHENG, Q.; SHEN, J.; WANG, H.; LI, D. Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na⁺ accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 42039, 2017.

JI, H.; PARDO, J. M.; BATELLI, G.; VAN OOSTEN, M. J.; BRESSAN, R. A.; LI, X. The salt overly sensitive (SOS) pathway: established and emerging roles. **Molecular plant**, v. 6, n. 2, p. 275-286, 2013.

KALAJI, H. M.; SCHANSKER, G.; LADLE, R. J.; GOLTSEV, V.; BOSA, K.; ALLAKHVERDIEV, S. I.; ... ZIVCAK, M. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues. **Photosynthesis research**, v. 122, p. 121-158, 2014.

KALAJI, H. M.; SCHANSKER, G.; BRESTIC, M.; BUSSOTTI, F.; CALATAYUD, A.; FERRONI, L.; ... BAĞBA, W. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. **Photosynthesis Research**, v. 132, p. 13-66, 2017.

KHAN, W. U. D.; AZIZ, T.; MAQSOOD, M. A.; FAROOQ, M.; ABDULLAH, Y.; RAMZANI, P. M. A.; BILAL, H. M. Silicon nutrition mitigates salinity stress in maize by modulating ion accumulation, photosynthesis, and antioxidants. **Photosynthetica**, v. 56, p. 1047-1057, 2018.

KWON, O. K.; MEKAPOGU, M.; KIM, K. S. Effect of salinity stress on photosynthesis and related physiological responses in carnation (*Dianthus caryophyllus*). **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 60, p. 831-839, 2019.

LACERDA, Janderson de Jesus. **Estresse salino e seus efeitos no crescimento inicial de clones de *Eucalyptus* spp.** Orientador: Paulo Araquém Ramos Cairo. 2016. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da. Conquista, Bahia, 2016. 122p.

LICHTENTHALER, H. K. Multi-colour fluorescence imaging of photosynthetic activity and plant stress. **Photosynthetica**, v. 59, n. 2, p. 4-20, 2021.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R Fd of leaves with the PAM fluorometer. **Photosynthetica**, v. 43, p. 379-393, 2005.

LING, F.; SU, Q.; JIANG, H.; CUI, J.; HE, X.; WU, Z.; ZHANG, Z.; LIU, J.; ZHAO, Y. Effects of strigolactone on photosynthetic and physiological characteristics in salt-stressed rice seedlings. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 6183, 2020.

LORENZI, Harri J.; BACHER, Luís Benedito; TORRES, Mario Antônio Virmond. **Árvores e arvoretas exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2018.

IBÁ – INDUSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. 2022. Brasília. Relatório Ibá. 96p. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-anual-iba2022-compactado.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Registro Nacional de Cultivares – **RNC**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/guia-deservicos/registro-nacional-de-cultivares-rnc>>, Acesso em: 13 abr. 2023.

MÜLLER, C.; HODECKER, B. E. R.; MERCHANT, A.; BARROS, N. F. D. Nutritional efficiency of *Eucalyptus* clones under water stress. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 41, p. 1-17, 2017.

NOBRE, R. G.; GHEYI, H. R.; CORREIA, K. G.; SOARES, F. A. L.; ANDRADE, L. O. D. Crescimento e floração do girassol sob estresse salino e adubação nitrogenada. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 41, p. 358-365, 2010.

OLIVEIRA, F. S. **Efeitos da irrigação com água salina no crescimento inicial e na produção de fitomassa em clones de eucalipto**. Orientador: Cristiano Tagliaferre. 2018. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2018.

PAPAGEORGIU, G. C.; GOVINDJEE (Ed.). **Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2004.

PERRONE, D.; MONTEIRO, M.; NUNES, J.C. Chapter 1 The chemistry of selenium. In Selenium: Chemistry, Analysis, Function and Effects; Preedy, V.R., Ed.; **The Royal Society of Chemistry**: Cambridge, UK, 2015; p. 3-15.

PILON-SMITS, E. A. H. Selenium in plants. In: Progress in Botany: v. 76. Cham: **Springer International Publishing**, 2014. p. 93-107.

PICHELLI, K.; SOARES, S. Transferência de Tecnologia Florestal – Eucalipto. **Embrapa Florestas**, 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/florestas/transferencia-de-tecnologia/eucalipto>>. Acesso em: 01 maio 2023.

REIS, L. A. C.; OLIVEIRA, J. A. de; FARNESE, F. dos S.; ROSADO, A. M.; REIS, L. A. C. Chlorophyll fluorescence and water content parameters are good biomarkers for selecting drought tolerant *Eucalyptus* clones. **Forest Ecology and Management**, v. 481, p. 118682, 2021.

REIS, C. A. F.; DOS SANTOS, P. E. T.; PALUDZYSZYN FILHO, E. Avaliação de teste clonal de eucaliptos multiespécies em Mato Grosso do Sul. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 7., Uberlândia. Variedade melhorada: a força da nossa agricultura: **Anais**. Viçosa, MG: SBMP, 2013.

SAFDAR, H.; AMIN, A.; SHAFIQ, Y.; ALI, A.; YASIN, R.; SHOUKAT, A.; HUSSAN, M. U.; SARWAR, M. I. A review: Impact of salinity on plant growth. **Nature and Science**, v. 17, n. 1, p. 34-40, 2019.

SBS (SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA). **Fatos e números do Brasil Florestal**. São Paulo, 2005.

SCHWARZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**, v. 79, n. 12, p. 3292-3293, 1957.

SHEHATA, S. A.; IBRAHIM, M. F. M. Grafting, Seed Soaking/Priming, Soil Amendment, and Foliar Application as Tools to Increase Abiotic Stress Tolerance of Crops. In: **Crop Sustainability and Intellectual Property Rights**. Apple Academic Press, 2023. p. 151-190.

SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R.. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi journal of biological sciences**, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.

SRIVASTAVA, Priyanka; WU, Qiang-Sheng; GIRI, Bhoopander. Salinity: an overview. **Microorganisms in saline environments: strategies and functions**, p. 3-18, 2019.

SILVA, J. R. D. J.; CAIRO, P. A. R.; DO BOMFIM, R. A. A.; BARBOSA, M. P.; SOUZA, M. O.; LEITE, T. C. Morphological and physiological changes during leaf ontogeny in genotypes of Eucalyptus young plants. **Trees**, v. 34, p. 759-769, 2020.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll *a* fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 104, n. 1-2, p. 236-257, 2011.

STIRBET, A.; RIZNICHENKO, G. Y.; RUBIN, A. B.; GOVINDJEE. Modeling chlorophyll *a* fluorescence transient: relation to photosynthesis. **Biochemistry (Moscow)**, v. 79, p. 291-323, 2014.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M; SRIVASTAVA, A. Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient. In: PAPAGEORGIOU, G. C.; GOVINDJEE (Ed.). **Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2004.

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

TERRY, N.; ZAYED, A. M.; DE SOUZA, M. P.; TARUN, A. S. Selenium in higher plants. **Annual review of plant biology**, v. 51, n. 1, p. 401-432, 2000.

TSIMILLI-MICHAEL, M. Revisiting JIP-test: An educative review on concepts, assumptions, approximations, definitions and terminology. **Photosynthetica**, v. 58, p. 275-292, 2020.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. The energy flux theory 35 years later: formulations and applications. **Photosynthesis Research**, v. 117, n. 1-3, p. 289-320, 2013.

TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. Experimental resolution and theoretical complexity determine the amount of information extractable from the chlorophyll fluorescence transient OJIP. In: **Photosynthesis. Energy from the Sun: 14th International Congress on Photosynthesis**. Springer Netherlands, 2008. p. 697-701.

TORDIN, Maria Cristina. Estudo sobre evolução do eucalipto busca descobrir híbrido ideal. In: Florestas e Silvicultura. **Embrapa Meio Ambiente**. 12 abr. 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/60614596/estudo-sobre-evolucao-do-eucalipto-busca-descobrir-hibrido-ideal>>. Acesso em 23 abr. 2023.

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

XAVIER, M. E. V.; BREDÁ, M. O.; GONZAGA, E. P.; SANTOS, D. S. D.; COSTA, J. G. D. Occurrence and injury levels of *Costalimaita ferruginea* (Fabricius, 1801) (Coleoptera: Chrysomelidae) in *Eucalyptus* clones in Alagoas State. **Ciência Florestal**, v. 29, p. 1452-1458, 2019.

XUE, T.; HARTIKAINEN, H.; PIIRONEN, V. Antioxidative and growth-promoting effect of selenium on senescing lettuce. **Plant and soil**, v. 237, p. 55-61, 2001.

ZHAO, Chunzhao et al. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. **The innovation**, v. 1, n. 1, 2020.

ZHAO, S.; ZHANG, Q.; LIU, M.; ZHOU, H.; MA, C.; WANG, P. Regulation of plant responses to salt stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4609, 2021.

ZHANG, Huilong et al. The Arabidopsis Ca²⁺-dependent protein kinase CPK12 is involved in plant response to salt stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 12, p. 4062, 2018.

ZHANG, H.; ZHANG, Y.; DENG, C.; DENG, S.; LI, N.; ZHAO, C.; ZHAO, R.; LIANG, S.; CHEN, S. Geographical spatial distribution and productivity dynamic change of eucalyptus plantations in China. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 19764, 2021.

CAPITULO 1 – EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE

SANTOS JUNIOR, R. N. **Efeitos da Aplicação de Selênio Exógeno sobre a Fisiologia de Mudanças de Eucalipto Cultivadas em Condições de Salinidade**. 2023. 95f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, UFES, Espírito Santo. Brasil.

RESUMO

O selênio (Se) ainda não é considerado como um elemento essencial ao metabolismo vegetal. Contudo, está bem documentado que em doses adequadas o Se pode ser benéfico às plantas e aprimorar os mecanismos de tolerância ao estresse. Neste experimento, avaliou-se as respostas fisiológicas de dois genótipos de eucalipto (VCC 865 e AEC 0144) cultivados ou não em condições salinas (0 e 100 mM) e os efeitos da aplicação de Se (0, 1, 5 e 25 μM) sobre as variáveis de crescimento, biomassa, trocas gasosas, fluorescência da clorofila *a*, acúmulo de íons nos tecidos vegetais e teor de pigmento foliar. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado e cada genótipo foi consistiu num experimento independente. Após 60 dias de tratamento, avaliou-se o crescimento, biomassa, concentração de íons (K^+ , Na^+ e Ca^{2+}) nos tecidos vegetais, fluorescência da clorofila *a*, trocas gasosas e teor de pigmentos. Os dados obtidos foram submetidos a ANOVA e comparados pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Os resultados obtidos mostraram que a salinidade reduziu significativamente a altura, diâmetro do colo (D_c), biomassa, taxa de fotossíntese líquida (P_N), taxa de transpiração (T_R), condutância estomática (g_s), eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_M) e aumentou a concentração de íons Na^+ nas raízes e folhas. Também foi verificado que, em ambos os genótipos, a aplicação de 25 μM de Se potencializou os efeitos da salinidade e agravou a redução da P_N . Entretanto, a aplicação de 1 e 5 μM de Se atenuou os efeitos da salinidade sobre o F_v/F_M , tanto em VCC 865 quanto em AEC 0144. Para o genótipo VCC 865, a aplicação de 1 μM de Se aumentou significativamente a concentração de K^+ na raiz e reduziu a contração de Na^+ no caule e nas folhas. Em AEC 0144, a aplicação de 1 μM de Se aumentou significativamente a contração de K^+ na raiz e nas folhas e reduziu a concentração de Na^+ nas folhas. O teor de pigmentos cloroplastídicos nas folhas não foi influenciado pela salinidade ou aplicação de Se. Por fim, concluiu-se que no cultivo em condições salinas, a aplicação de 1 e 5

μM de Se em mudas de VCC 865 e AEC 0144 foi capaz de reduzir a concentração de Na^+ nas folhas e de realizar a manutenção da eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_M).

Palavras-chave: AEC 0144 • estresse salino • fotossíntese • trocas gasosas • VCC 865

SANTOS JUNIOR, R. N. **Effects of Exogenous Selenium Application on the Physiology of Eucalyptus Seedlings Cultivated in Salinity Conditions.** 2023. 95f. Thesis (Doctoral in Plant Biology) – Postgraduation Program in Plant Biology, UFES, Espírito Santo. Brazil.

ABSTRACT

Selenium (Se) is not yet considered an essential element for plant metabolism. However, it is well documented that in adequate doses Se can be beneficial to plants and improve stress tolerance mechanisms. In this experiment, the physiological responses of two eucalyptus genotypes (VCC 865 and AEC 0144) cultivated or not under saline conditions (0 and 100 mM) and the effects of Se application (0, 1, 5 and 25 μM) were evaluated. on the variables of growth, biomass, gas exchange, chlorophyll *a* fluorescence, accumulation of ions in plant tissues and leaf pigment content. The experiment was carried out in a completely randomized design and each genotype consisted of an independent experiment. After 60 days of treatment, growth, biomass, concentration of ions (K^+ , Na^+ and Ca^{2+}) in plant tissues, chlorophyll *a* fluorescence, gas exchange and pigment content were evaluated. The data obtained were submitted to ANOVA and compared using the Duncan test ($p < 0.05$). The results obtained showed that salinity significantly reduced the height, collar diameter (D_c), biomass, net photosynthetic rate (P_N), transpiration rate (T_R), stomatal conductance (g_s), maximal quantum efficiency of PSII (F_v/F_M) and increased the concentration of Na^+ ions in roots and leaves. It was also found that, in both genotypes, the application of 25 μM Se potentiated the effects of salinity and worsened the reduction in P_N . However, the application of 1 and 5 μM of Se attenuated the effects of salinity on F_v/F_M , both in VCC 865 and in AEC 0144. For the VCC 865 genotype, the application of 1 μM of Se significantly increased the concentration of K^+ in the root and reduced Na^+ contraction in the stem and leaves. In AEC 0144, application of 1 μM Se significantly increased K^+ contraction in root and leaves and reduced Na^+ concentration in leaves. The content of chloroplast pigments in the leaves was not influenced by salinity or Se application. Finally, it was concluded that in cultivation under saline conditions, the application of 1 and 5 μM of Se in seedlings of VCC 865 and AEC 0144 was able to reduce the concentration of Na^+ in the leaves and maintain the maximum quantum efficiency of the FSII (F_v/F_M).

Keywords: AEC 0144 • gas exchange • photosynthesis • salt stress • VCC 865

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* L'Hér. (eucalipto) possui mais de 800 espécies e é originário da Austrália e outras ilhas como Filipinas, Indonésia, Timor-Leste e Papua-Nova Guiné (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2023). No Brasil, existem aproximadamente 7,5 milhões de hectares de florestas plantadas de eucalipto (IBÁ, 2022) voltadas, principalmente, para a produção de madeira, energia, papel e celulose (LORENZI; BACHER; TORRES, 2018). Apesar do cenário de crescimento produtivo, a expansão de novas áreas de plantio têm esbarrado nas restrições ambientais provocadas pelas mudanças climáticas. Dessa forma, a possibilidade de expansão de florestas plantadas para regiões tradicionalmente não florestais estão entre os maiores desafios para o crescimento da produção de eucalipto (REIS et al., 2021; CUNHA et al., 2021).

Estima-se que 20% das terras cultivadas e 33% das terras agrícolas irrigadas são atingidas pela alta salinidade e, como se não bastasse, as áreas salinizadas ao redor do mundo aumentam a cada ano devido a fatores como a baixa precipitação, alta evapotranspiração superficial, irrigação com águas salinas, práticas culturais inadequadas (SHRIVASTAVA e KUMAR, 2015), desmatamento e aumento do nível do mar (FAO, 2021).

O estresse salino inibe o crescimento e desenvolvimento vegetal, principalmente, devido à diminuição do potencial hídrico (que compromete a absorção de água da planta) e à toxicidade iônica (que causa desequilíbrio iônico e dificulta a absorção de nutrientes) (ZHAO *et al.*, 2020). Diante disso, o aumento da concentração de sais solúveis no solo, tornou-se um sério problema para a produtividade agrícola e várias técnicas e métodos vêm sendo empregados na tentativa de controlar esse problema e aumentar a produtividade (SRIVASTAVA *et al.*, 2019), como: (1) a adoção de estratégias agronômicas adequadas, bem como a seleção acurada das espécies e das cultivares mais tolerantes à salinidade (DIAS *et al.*, 2016); e (2) o uso/aplicação de substâncias exógenas visando aprimorar os mecanismos de tolerância ao estresse, tais como silício (TRIPATHI *et al.*, 2016), boro (DONG *et al.*, 2016), ácido salicílico, peróxido de hidrogênio (SOHAG *et al.*, 2020), entre outras.

Apesar do selênio (Se) ainda não ser reconhecido como um nutriente essencial ao metabolismo vegetal (AZIZI *et al.*, 2020), está bem documentado que a aplicação deste em baixas concentrações pode proporcionar a ocorrência de efeitos benéficos às plantas como aumento da síntese de pigmentos, trocas gasosas, taxa fotossintética, acúmulo de osmoprotetores e aprimoramento do sistema de defesa antioxidante, melhorando a capacidade de tolerância aos mais diversos estresses ambientais, tais como: altas temperaturas, seca (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020), metais pesados (GUPTA e GUPTA, 2017) e salinidade

(JIANG *et al.*, 2017). Por outro lado, o excesso de Se pode promover redução de crescimento, clorose, murchamento e ressecamento das folhas, diminuição da síntese de proteínas, lesões e morte prematura da planta (TERRY *et al.*, 2000).

Diante do exposto, baseado na premissa da necessidade de expansão produtiva do eucalipto e na hipótese de que a aplicação de Se em baixas concentrações é capaz de atenuar os efeitos do estresse salino em plantas, o objetivo deste estudo foi: avaliar os efeitos da aplicação de Se sobre o comportamento fisiológico (crescimento, biomassa, concentração de íons salinos nos tecidos vegetais, trocas gasosas, fluorescência da chl *a* e teor de pigmentos) de plantas de dois genótipos de eucalipto (VCC 865 e AEC 0144), cultivados ou não em condições salinas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL

O experimento foi conduzido na área experimental do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil (20°16'29''S; 40°18'21''W, atl. 4 m) de 08 de outubro de 2021 a 23 de dezembro de 2021. As mudas utilizadas foram adquiridas do viveiro ClonaTech (19°10'58''S; 40°5'32''W, alt. 57 m), localizado em Sooretama/ES (Figura 6).

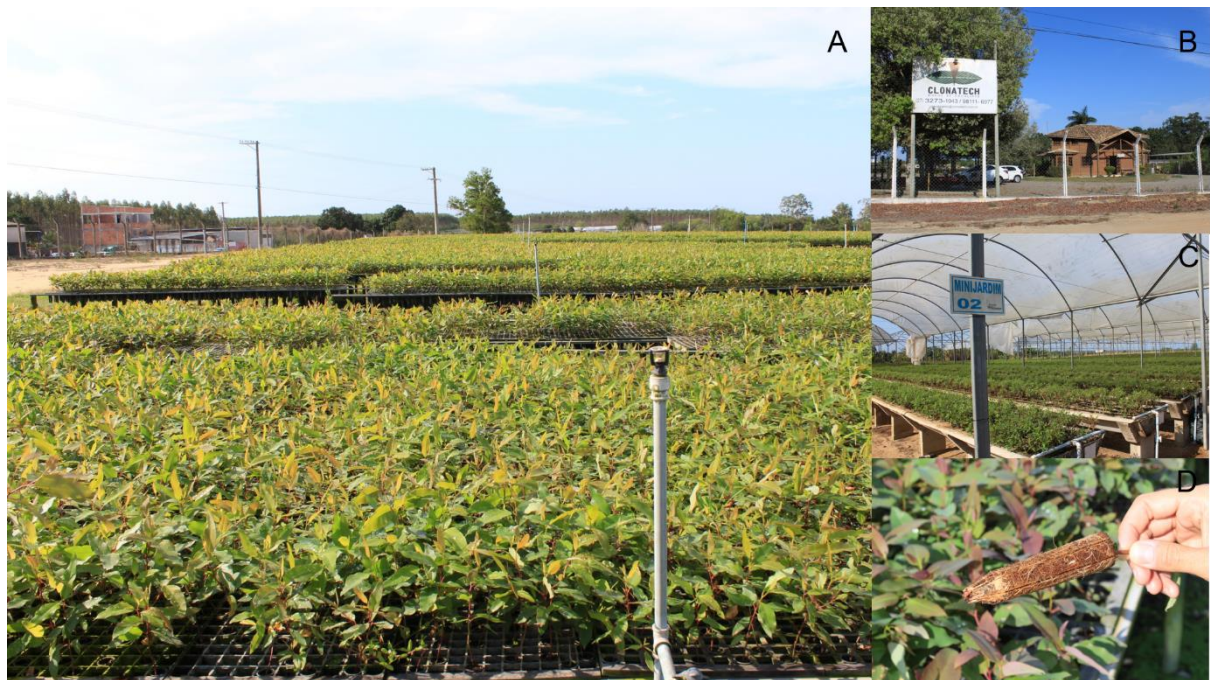


Figura 6: A: mudas produzidas no viveiro Clonatech; B: entrada do viveiro; C: mini jardim clonal; D: enraizamento das mudas.

Foram adquiridas mudas de dois genótipos (cultivares) de eucalipto, amplamente utilizados em plantios de larga escala, a saber: VCC 865 (*Eucalyptus urograndis*, um híbrido entre *Eucalyptus grandis* W.Hill e *Eucalyptus urophylla* S.T.Blake), registrado no MAPA sob o n° 22124/2007 (Figura 7A) e AEC 0144 (*Eucalyptus urophylla* S.T.Blake), registrado no MAPA sob o n° 21874/2007 (Figura 7B). Durante a etapa de aquisição, as mudas estavam em idade de expedição (90 dias) e apresentavam altura média de 30 cm, quatro pares de folhas, diâmetro do colo uniforme e boas condições nutricionais e fitossanitárias.



Figura 7: Clones de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) adquiridos em idade de expedição aos 90 dias. A: VCC 865 (*E. urograndis*) e B: AEC 0144 (*E. urophylla*). Barra de escala = 3 cm.

As mudas foram adquiridas em tubetes (Figura 8A) e transplantadas para vasos plásticos de 12 L, com dimensões de 30 cm x 25 cm x 22 cm (Nutriplan, modelo n° 06). Antes da etapa de transplântio, os vasos foram pintados de branco para reduzir absorção de calor. O substrato utilizado para o preenchimento dos vasos foi areia de rio lavada (Figura 8B), previamente peneirada em malha de 5 mm. Em seguida, cada vaso recebeu uma camada de isopor e foi vedado, na porção superior, com plástico filme PVC para reduzir a perda direta de água pela evaporação (Figura 8C). Os furos de drenagem na porção inferior do vaso permaneceram descobertos.



Figura 8: Visão geral do experimento. A: mudas adquiridas (VCC 865 e AEC 0144) em tubetes; B: transplântio para vasos de 12 L; C: mudas após acondicionamento. Barra de escala = 16 cm

Logo após o transplântio, cada vaso recebeu 2,8 L de solução nutritiva de Clark (1975), cuja quantidade foi suficiente para atingir a capacidade máxima de retenção do vaso (Tabela 1). As plantas foram submetidas a um período de adaptação à solução nutritiva com 50% e 100% de força iônica, permanecendo em cada nível por uma semana. O pH da solução nutritiva foi ajustado para permanecer em 5,5, utilizando HCl ou NaOH, ambos a 0,1 M.

Tabela 1: Composição da solução nutritiva de Clark (1975).

Solução estoque	Concentração	Vol. para a solução nutritiva (ml L ⁻¹)
KNO ₃	1 M	1,8
Ca(NO ₃) ₂	1 M	2,6
MgSO ₄	1 M	0,085
MgCl ₂	1 M	0,515
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,1 M	0,7
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 M	0,415
Micro-Fe	*	1
Fe-EDTA	**	0,4

*Micronutrientes (g L⁻¹): MnSO₄.1H₂O = 1,183; H₃BO₃ = 1,175; ZnSO₄.7H₂O = 0,575; Na₂MoO₄.2H₂O = 0,145; CuSO₄.5H₂O = 0,125.

**Foram dissolvidos 33,3 g de Na₂-EDTA em 500 ml de água contendo 100,4 ml de NaOH 1M. Logo após, adicionou-se 24,9 g de FeSO₄.7H₂O à solução e, após a homogeneização, a mesma posta para arejar durante 12 h. Por fim, o volume foi completado até 1 L com água deionizada.

2.2. DESIGN EXPERIMENTAL

Após 14 dias de aclimatação, as mudas foram submetidas a diferentes tratamentos, durante 60 dias, montados em um delineamento inteiramente casualizado com os seguintes tratamentos: controle (0 µM de Se e 0 mM de NaCl), 1 Se (1 µM de Se e 0 mM de NaCl), 5 Se (5 µM de Se e 0 mM de NaCl), 25 Se (25 µM de Se e 0 mM de NaCl), S (0 µM de Se e 100 mM de NaCl), S + 1 Se (1 µM de Se e 100 mM de NaCl), S + 5 Se (5 µM de Se e 100 mM de NaCl) e S + 25 Se (25 µM de Se e 100 mM de NaCl) (Figura 9). Cada genótipo foi avaliado individualmente diante dos tratamentos, ou seja, cada genótipo constituiu em um experimento independente. Cada experimento incluiu um genótipo e oito tratamentos com quatro unidades amostrais (n=4), totalizando 32 plantas por experimento.

As concentrações de Se foram estabelecidas conforme a proposição de Jiang *et al.* (2017) e como fonte de selênio foi utilizado o selenito de sódio (Na₂SeO₃), por ser mais eficiente que o selenato de sódio (Na₂SeO₄) para atenuar os efeitos da salinidade (HAWRYLAK-NOWAK, 2009). Ao longo do experimento, realizou-se a irrigação diária de acordo com cada tratamento, em quantidade suficiente para drenar 10% da capacidade máxima de retenção do vaso e, a cada semana, a irrigação foi realizada até drenar 40% da capacidade máxima de retenção do vaso.

Este procedimento foi realizado de acordo com Lacerda (2016) e visou evitar a concentração de sais na solução nutritiva dos vasos. A salinidade dos vasos foi monitorada por meio de condutivímetro (Digimed CD-20).

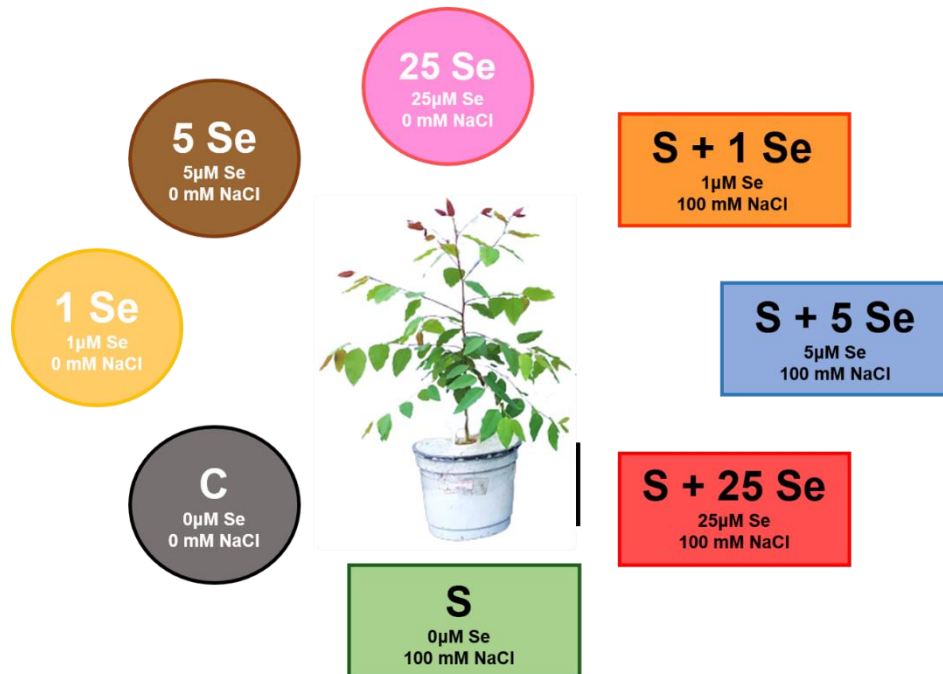


Figura 9: Ilustração dos tratamentos utilizados no presente experimento, para cada um dos genótipos (VCC 865 e AEC 0144). Barra de escala = 25 cm.

Onde: controle (0 μM de Se e 0 mM de NaCl); 1 Se (1 μM de Se e 0 mM de NaCl); 5 Se (5 μM de Se e 0 mM de NaCl); 25 Se (25 μM de Se e 0 mM de NaCl); S (0 μM de Se e 100 mM de NaCl); S + 1 Se: (1 μM de Se e 100 mM de NaCl); S + 5 Se: (5 μM de Se e 100 mM de NaCl); e S + 25 Se: (25 μM de Se e 100 mM de NaCl).

2.3. CRESCIMENTO

A coleta dos dados de crescimento foi realizada do início ao fim do experimento, a cada 10 dias. A altura foi determinada com uma trena, medindo o comprimento desde a região do colo da planta, na base do caule, até o topo da gema apical e os valores foram expressos em centímetros (cm). O diâmetro do colo (D_c) foi determinado com paquímetro digital e os valores foram expressos em milímetros (mm).

2.4. BIOMASSA

Ao fim de 60 dias, o material vegetal de cada unidade amostral foi acondicionado em sacos de papel kraft e levado para estufa de circulação forçada a 60 °C até atingir massa constante. Em seguida, pesou-se, separadamente, em balança de precisão, a massa seca de cada

órgão vegetativo (raiz, caule e folhas). A massa seca total foi determinada através do somatório das massas individuais e os valores foram expressos em gramas (g).

2.5. CONCENTRAÇÃO DE ÍONS NOS TECIDOS VEGETAIS

2.5.1. Digestão nitroperclórica

A quantificação dos teores de K^+ , Ca^{2+} e Na^+ nos tecidos vegetais (raiz, caule e folhas) foram determinadas de acordo com a metodologia proposta por Malavolta *et al.* (1997). Sendo assim, as amostras foram acondicionadas em sacos de papel kraft e levadas para estufa de circulação forçada a 60 °C até atingirem massa constante. O material vegetal seco foi pesado (0,5 g), moído e armazenado em tubo de digestão. Em seguida, adicionou-se três pérolas de vidro, acrescentou-se 4 ml de ácido perclórico ($HClO_4$) e 5 ml de ácido nítrico (HNO_3). As amostras permaneceram em temperatura ambiente por 12 h e, posteriormente, foram transferidas para um bloco digestor a 70 °C. Aumentou-se a temperatura em 30 °C a cada 30 minutos até atingir 210 °C. A digestão foi considerada completa quando a solução se apresentou incolor e houve a emissão de uma fumaça branca e densa de $HClO_4$ dentro do tubo digestor. Por fim, as amostras foram resfriadas naturalmente e volume diluído para 25 ml, utilizando água deionizada. O extrato gerado foi utilizado para determinar os teores de K^+ , Ca^{2+} e Na^+ .

2.5.2. Diluição do extrato para macronutrientes

Utilizando um dispensador/diluidor, tomou-se uma alíquota de 5 ml do extrato obtido no item 2.5.1 e transferiu-a para o tubo de ensaio. Em seguida, adicionou-se 20 ml de água deionizada e agitou-se com o vótex.

2.5.3. Determinação de potássio (K)

Para determinação do teor, transferiu-se 1 ml do extrato para macronutrientes (item 2.5.2) em um tubo de ensaio. Em seguida, utilizando um dispensador/diluidor, adicionou-se 21,5 ml de água deionizada e 10% do volume final da amostra de cloreto de estrôncio ($SrCl_2$). Agitou-se e proferiu leitura em fotômetro de chama (B462, Micronal, São Paulo, Brasil).

2.5.4. Determinação de cálcio (Ca)

Para determinação do teor, transferiu-se 1 ml do extrato para macronutrientes (item 2.5.2) para um tubo de ensaio. Em seguida, utilizando um dispensador/diluidor, adicionou-se 21,5 ml de água deionizada e 10% do volume final da amostra de cloreto de estrôncio (SrCl_2). Agitou-se e proferiu leitura em espectrofotômetro de absorção atômica (iCE 3000, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA).

2.5.5. Determinação de sódio (Na)

Para determinação do teor, transferiu-se 1 ml do extrato obtido na digestão nitroperclórica (item 2.5.1), já diluído em 250 vezes, para um tubo de ensaio. Em seguida, utilizando um dispensador/diluidor, adicionou-se 9 ml de água deionizada, agitou-se e proferiu leitura em fotômetro de chama (B462, Micronal, São Paulo, Brasil).

2.6. TROCAS GASOSAS E FLUORESCÊNCIA DA Chl *a*

As trocas gasosas foram avaliadas no final do experimento e determinadas com um analisador de gás por infravermelho (*Infrared Gas Analyser* – IRGA; LI-6400XT, LI-COR, Lincoln, USA). As medições ocorreram entre 07h00min e 09h00min, em folhas jovens e completamente expandidas, presentes no terço médio de cada unidade experimental (planta). A câmara de aclimação acoplada ao equipamento foi configurada para fornecer quantidades fixas de PAR ($1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; valor definido previamente através de curvas de luz), temperatura ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) e CO_2 ($380 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$). As variáveis avaliadas foram: taxa de fotossíntese líquida (P_N), taxa de transpiração (T_R), condutância estomática (g_s) e concentração interna de CO_2 (C_i).

A fluorescência da clorofila *a* (Fl Chl *a*) foi determinada com fluorômetro acoplado (LI-6400-40, LI-COR Inc.) ao IRGA. As folhas previamente adaptadas ao escuro por 40 min., foram expostas a um pulso de luz vermelho-distante ($0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), para a determinação da fluorescência inicial (F_0). Em seguida, um pulso de luz saturante ($8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) com duração de 0,8 s foi aplicado para estimar a fluorescência máxima (F_M). A partir dos dados obtidos, determinou-se a eficiência quântica máxima do FSII (F_V/F_M), equivalente a $(F_M - F_0)/F_M$ (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004).

2.7. TEOR DE PIGMENTOS

Para determinar os teores de pigmentos, foram retirados dois discos foliares com diâmetro de 0,5 cm de cada unidade experimental e imergidos em tubos de ensaio contendo 7 ml de dimetilsulfóxido (DSMO). Em seguida, a extração foi realizada em banho-maria a 65 °C por uma hora. A leitura das alíquotas foi realizada em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) nos comprimentos de onda 480, 649 e 665 nm. Os teores de clorofilas e carotenoides, foram determinados a partir das equações desenvolvidas por Welburn (1994) para DMSO e os resultados foram expressos em .mg g⁻¹ MS.

$$Chl\ a = 12,47 A_{665} - 3,62 A_{649} \quad \text{equação (1);}$$

$$Chl\ b = 25,06 A_{649} - 6,50 A_{665} \quad \text{equação (2);}$$

$$x + c = (1000 A_{480} - 1,29 Chl_a - 53,78 Chl_b / 220) \quad \text{equação (3);}$$

Onde:

A₄₈₀ = absorbância a 480 nm;

A₆₄₉ = absorbância a 649 nm;

A₆₆₅ = absorbância a 665 nm;

Chl *a* = clorofila *a*;

Chl *b* = clorofila *b*;

x+c = carotenoides totais.

2.8. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A normalidade e homogeneidade dos dados foram testadas, respectivamente, por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Leneve. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativos pelo teste F, comparados pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no *software* InfoStat (FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

3. RESULTADOS

3.1. CRESCIMENTO

Quanto à altura do genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se nas menores concentrações (1 e 5 μM) foram significativamente maiores, quando comparadas às plantas tratadas apenas com Se na maior concentração (25 μM) e as cultivadas em condições salinas (com ou sem aplicação de Se). Neste cenário, a aplicação de diferentes concentrações de Se (1, 5 e 25 μM) não foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade sobre o crescimento em altura (Figura 10A). O mesmo comportamento foi observado nas plantas do genótipo AEC 0144, após 60 dias de tratamento (Figura 10B).

Com relação ao D_c , no genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se foram significativamente mais espessas, quando comparadas às plantas cultivadas em condições salinas (com ou sem aplicação de Se). Contudo, a aplicação de 1 μM de Se nas plantas cultivadas em condições salinas foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade e recuperar parcialmente o D_c (Figura 10C). Em AEC 0144, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se foram significativamente maiores quando comparadas às plantas cultivadas em condições salinas (com ou sem aplicação de Se) e nenhuma das diferentes concentrações de Se (1, 5 e 25 μM) foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade sobre o D_c (Figura 10D).

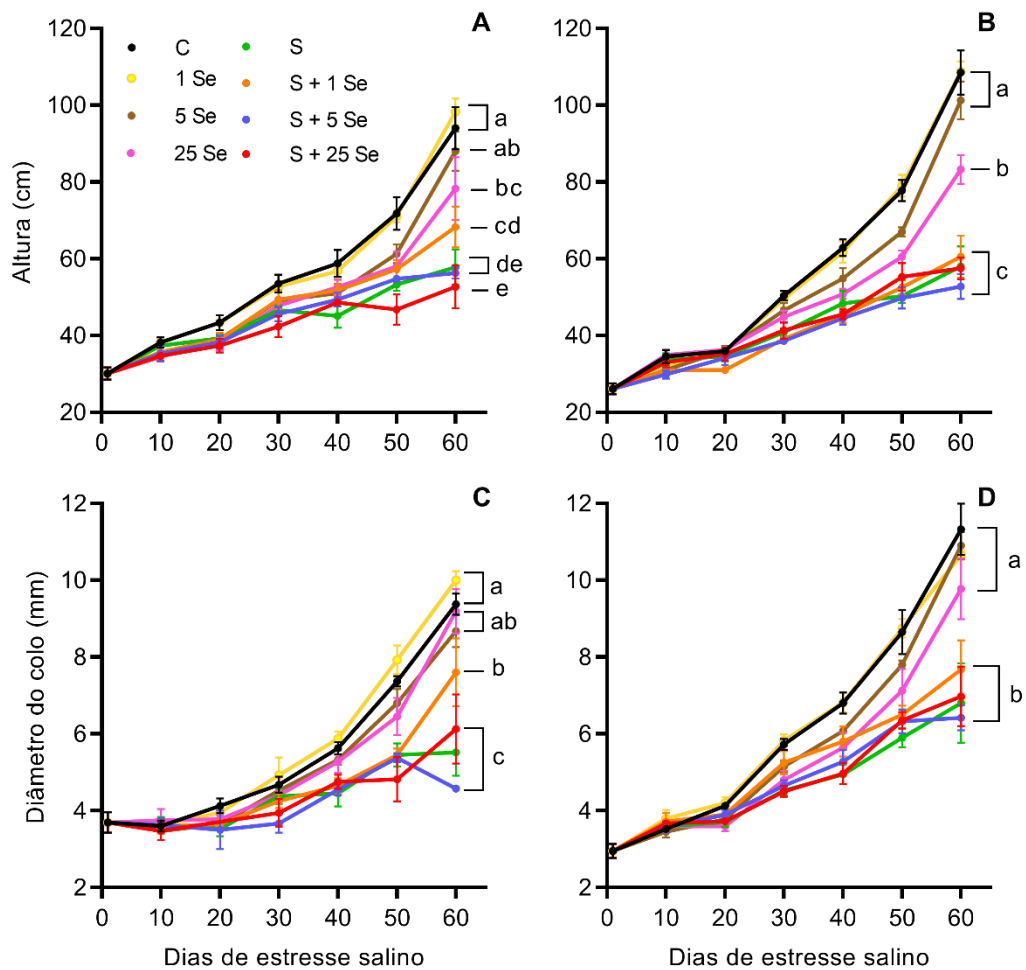


Figura 10: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre altura (A: VCC 865; B: AEC 0144) e diâmetro do colo (C: VCC 865; D: AEC 0144) de plantas de dois genótipos de eucalipto, cultivadas ou não em condições salinas (S) durante 60 dias. Os dados são apresentados como médias ($n = 4$) e as barras representam o erro padrão da média. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

3.2. BIOMASSA

No genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se na menor concentração (1 μM), apresentaram significativamente as maiores médias de biomassa total, quando comparadas às plantas tratadas apenas com Se nas concentrações 5 e 25 μM e as cultivadas em condições salinas (com ou sem aplicação de Se). Além disso, a aplicação de diferentes concentrações de Se (1, 5 e 25 μM) não foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade sobre o acúmulo de biomassa total (Figura 11A). O mesmo comportamento foi observado nas plantas do genótipo AEC 0144, após 60 dias de tratamento (Figura 11B).

Em suma, sob estresse salino, o acúmulo de biomassa nos órgãos avaliados (raiz, caule e folhas) foram significativamente afetados e, nestas condições, nenhuma das concentrações de

Se (1, 5 e 25 μM) foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade tanto em VCC 865 quanto em AEC 0144.

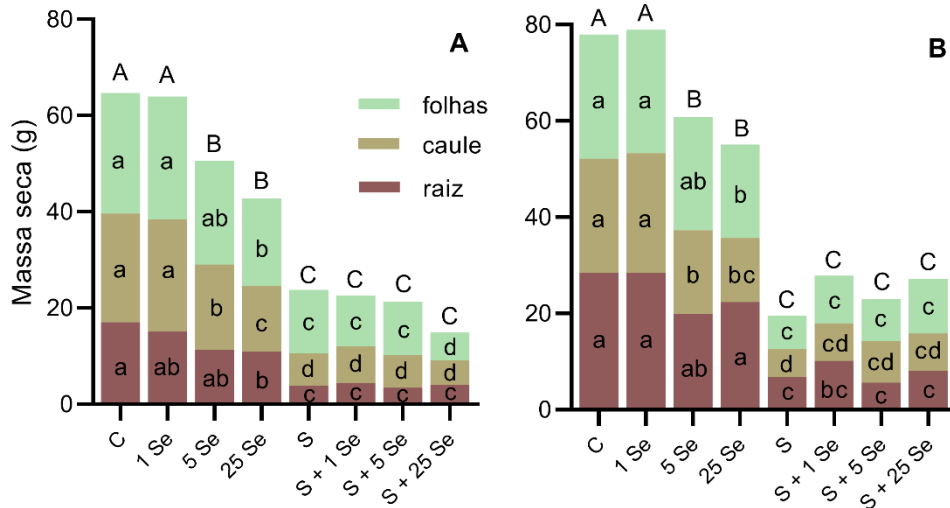


Figura 11: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre a biomassa seca de plantas de eucalipto, após 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S); A VCC 865; e B: AEC 0144. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). As letras minúsculas comparam as massas de cada órgão vegetal entre colunas e as letras maiúsculas comparam as colunas ($n = 4$).

3.3. CONCENTRAÇÃO DE ÍONS NOS TECIDOS VEGETAIS

No genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas cultivadas em condições salinas tiveram os conteúdos de K^+ e Na^+ na raiz; K^+ , Ca^{2+} e Na^+ na parte aérea (caule e folhas), bem como as razões $\text{K}^+:\text{Na}^+$ e $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ na raiz, caule e folhas significativamente afetados, em comparação ao controle (Tabela 2). Contudo, a aplicação de 1 μM de Se nas plantas cultivadas em condições salinas foi capaz de aumentar o conteúdo de K^+ e reduzir o de Ca^{2+} na raiz; e reduzir o conteúdo de Na^+ na parte aérea. Ademais, no mesmo cenário, a aplicação de 5 μM de Se foi capaz de reduzir o conteúdo de Ca^{2+} na raiz e aumentar o conteúdo de Ca^{2+} no caule. Já a aplicação de 25 μM de Se foi capaz de reduzir os conteúdos de Ca^{2+} na raiz e de Na^+ no caule. No cultivo sem salinidade, nenhuma das doses de Se (1, 5 e 25 μM) apresentaram alterações significativas em comparação ao controle.

Tabela 2: Efeitos do selênio (Se) nas concentrações de K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ e $\text{K}^+:\text{Na}^+$ em raiz, caule e folhas de plantas de VCC 865 (*E. urograndis*) após 60 dias de cultivo em condições salinas (S; 100 mM NaCl).

Tecido	Elementos	Tratamentos				
		Controle	S	S + 1 Se	S + 5 Se	S + 25 Se
Raiz	K^+ (g/Kg^{-1})	6,50 a	1,95 c	3,00 b	2,10 c	1,80 c

Continua...

Tabela 2 (continuação): Efeitos do selênio (Se) nas concentrações de K⁺, Ca²⁺, Na⁺, K⁺:Ca²⁺ e K⁺:Na⁺ em raiz, caule e folhas de plantas de VCC 865 (*E. urograndis*) após 60 dias de cultivo em condições salinas (S; 100 mM NaCl).

Tecido	Elementos	Tratamentos				
		Controle	S	S + 1 Se	S + 5 Se	S + 25 Se
Raiz	Ca ²⁺ (g/Kg ⁻¹)	6,44 a	7,00 a	4,76 b	5,25 b	4,62 b
	Na ⁺ (g/Kg ⁻¹)	2,05 b	8,75 a	10,00 a	11,25 a	10,75 a
	K ⁺ :Ca ²⁺	1,00 a	0,30 c	0,60 b	0,40 c	0,40 c
	K ⁺ :Na ⁺	3,17 a	0,22 b	0,30 b	0,19 b	0,17 b
Caule	K ⁺ (g/Kg ⁻¹)	7,15 a	1,35 b	1,20 b	0,75 b	0,90 b
	Ca ²⁺ (g/Kg ⁻¹)	5,25 a	3,92 b	3,36 b	6,58 a	2,87 b
	Na ⁺ (g/Kg ⁻¹)	0,52 c	14,50 a	6,00 b	6,25 b	6,16 b
	K ⁺ :Ca ²⁺	1,40 a	0,30 b	0,40 b	0,10 c	0,30 b
	K ⁺ :Na ⁺	13,75 a	0,09 b	0,20 b	0,13 b	0,15 b
Folha	K ⁺ (g/Kg ⁻¹)	13,00 a	6,50 b	7,15 b	5,85 b	7,80 b
	Ca ²⁺ (g/Kg ⁻¹)	14,98 a	5,60 b	5,04 b	6,58 b	5,53 b
	Na ⁺ (g/Kg ⁻¹)	1,30 c	35,50 c	16,25 b	42,00 c	33,00 c
	K ⁺ :Ca ²⁺	0,90 a	1,20 a	1,40 a	0,90 a	1,40 a
	K ⁺ :Na ⁺	10,00 a	0,18 b	0,44 b	0,14 b	0,24 b

Os dados apresentados são médias (n=3). Letras diferentes dentro da mesma linha representam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan.

Nota: Os tratamentos 1 Se, 5 Se e 25 Se não apresentaram diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan quando comparadas ao tratamento controle.

No genótipo AEC 0144, após 60 dias, as plantas cultivadas em condições salinas tiveram os conteúdos de K⁺, Na⁺ e Ca²⁺ na raiz; K⁺ e Na⁺ no caule; e K⁺, Na⁺ e Ca²⁺ nas folhas, bem como as razões K⁺:Na⁺ e K⁺:Ca²⁺ na raiz, caule e folhas significativamente afetados, em comparação ao controle (Tabela 3). Contudo, a aplicação de 1 µM de Se nas plantas cultivadas em condições salinas foi capaz de aumentar o conteúdo de K⁺ na raiz e nas folhas e reduzir o conteúdo de Na⁺ nas folhas. Além disso, nas mesmas condições, a aplicação de 5 µM de Se foi capaz de reduzir o conteúdo de Na⁺ nas folhas e a aplicação de 25 µM de Se foi capaz de aumentar o conteúdo de Ca²⁺ na raiz e K⁺ nas folhas. No cultivo sem salinidade, nenhuma das doses de Se (1, 5 e 25 µM) apresentaram alterações significativas em comparação ao controle.

Tabela 3: Efeitos do selênio (Se) nas concentrações de K⁺, Ca²⁺, Na⁺, K⁺:Ca²⁺ e K⁺:Na⁺ em raiz, caule e folhas de plantas de AEC 0144 (*E. urophylla*) após 60 dias de cultivo em condições salinas (S; 100 mM NaCl).

Órgão	Elementos	Tratamentos				
		Controle	S	S + 1 Se	S + 5 Se	S + 25 Se
Raiz	K ⁺ (g/Kg ⁻¹)	12,35 a	2,85 c	4,90 b	2,55 c	2,10 c
	Ca ²⁺ (g/Kg ⁻¹)	8,12 a	5,88 c	5,11 c	4,83 c	7,35 b
	Na ⁺ (g/Kg ⁻¹)	1,95 b	13,25 a	13,50 a	12,25 a	13,00 a
	K ⁺ :Ca ²⁺	1,50 a	0,50 c	0,96 b	0,50 c	0,30 c
	K ⁺ :Na ⁺	6,33 a	0,22 b	0,36 b	0,16 b	0,21 b

Continua...

Tabela 3 (continuação): Efeitos do selênio (Se) nas concentrações de K⁺, Ca²⁺, Na⁺, K⁺:Ca²⁺ e K⁺:Na⁺ em raiz, caule e folhas de plantas de AEC 0144 (*E. urophylla*) após 60 dias de cultivo em condições salinas (S; 100 mM NaCl).

Órgão	Elementos	Tratamentos				
		Controle	S	S + 1 Se	S + 5 Se	S + 25 Se
Caule	K ⁺ (g/Kg ⁻¹)	10,40 a	1,50 b	1,35 b	1,65 b	1,05 b
	Ca ²⁺ (g/Kg ⁻¹)	3,01 a	3,29 a	2,66 a	3,29 a	2,52 a
	Na ⁺ (g/Kg ⁻¹)	0,35 b	4,75 a	4,75 a	5,75 a	5,00 a
	K ⁺ :Ca ²⁺	3,50 a	0,50 b	0,50 b	0,50 b	0,40 b
	K ⁺ :Na ⁺	29,71 a	0,32 b	0,28 b	0,21 b	0,29 b
Folha	K ⁺ (g/Kg ⁻¹)	13,00 a	8,00 c	9,75 b	7,80 c	9,10 b
	Ca ²⁺ (g/Kg ⁻¹)	18,41 a	6,30 b	6,02 b	5,60 b	6,93 b
	Na ⁺ (g/Kg ⁻¹)	1,10 c	30,00 a	24,25 b	23,00 b	36,50 a
	K ⁺ :Ca ²⁺	0,70 b	1,30 a	1,60 a	1,40 a	1,31 a
	K ⁺ :Na ⁺	11,82 a	0,27 c	0,40 b	0,33 b	0,25 c

Os dados apresentados são médias (n=3). Letras diferentes dentro da mesma linha representam diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan.

Nota: Os tratamentos 1 Se, 5 Se e 25 Se não apresentaram diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Duncan quando comparadas ao tratamento controle.

3.4. FLUORESCÊNCIA DA Chl *a*

No genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se (1, 5 e 25 µM) apresentaram significativamente maiores médias de F_v/F_M, quando comparadas às plantas cultivadas em soluções salinas (Figura 12A). Contudo, nestas condições, a aplicação de 1 e 5 µM de Se foi capaz de realizar a manutenção de F_v/F_M para os mesmos níveis das plantas controle, ao passo que a aplicação de 25 µM de Se agravou os efeitos da salinidade e reduziu ainda mais a F_v/F_M.

Nas plantas de AEC 0144 (Figura 12B) o comportamento observado foi semelhante ao relatado para VCC 865, exceto pela aplicação de 25 µM de Se nas plantas cultivadas em soluções salinas que não potencializou a redução de F_v/F_M e a manteve semelhante as plantas cultivadas em soluções salinas sem a aplicação de Se.

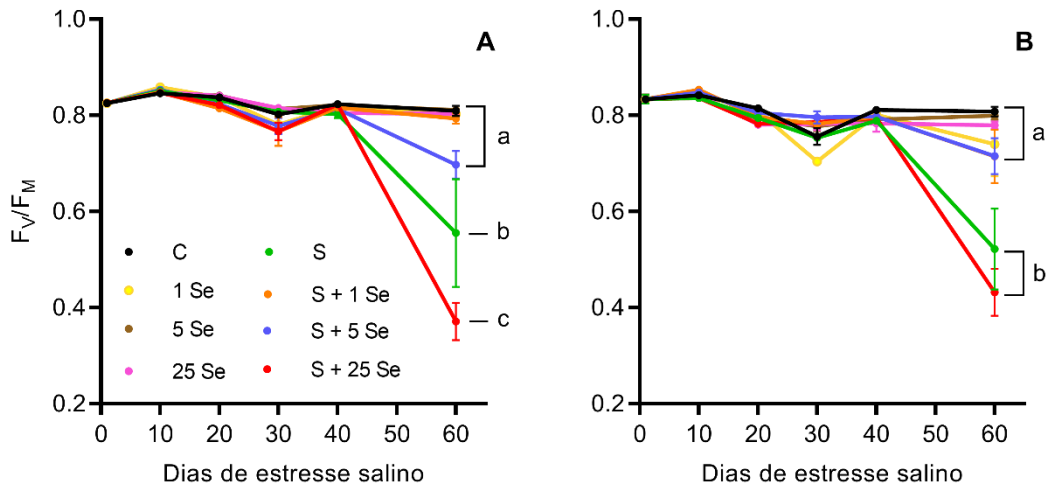


Figura 12: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre a eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) em folhas de mudas de eucalipto (A: VCC 865; e B: AEC 0144) durante 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S). As médias ($n = 4$) seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0.05$). As barras representam o erro padrão da média.

3.5. TROCAS GASOSAS

Em relação as trocas gasosas para o genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se (1, 5 e 25 μM) apresentaram significativamente as maiores médias de P_N , quando comparadas às plantas cultivadas em soluções salinas (com ou sem aplicação de Se) (Figura 13A, C, E e G). Neste cenário, a aplicação das menores concentrações de Se (1 e 5 μM) não foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade sobre a P_N e, simultaneamente, a aplicação da maior concentração de Se (25 μM) agravou os efeitos da salinidade e reduziu ainda mais a P_N . A T_R e a g_s foram significativamente reduzidas pelo cultivo em condições salinas e a aplicação de diferentes concentrações de Se (1, 5 e 25 μM) não foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade.

No genótipo AEC 0144, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se, nas menores concentrações (1 e 5 μM) apresentaram significativamente as maiores médias de P_N , quando comparadas às plantas tratadas apenas com Se na maior concentração (25 μM) e as cultivadas em condições salinas (com ou sem aplicação de Se). No entanto, a aplicação de 1 μM de Se, nas plantas cultivadas em condições salinas, foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade e recuperar parcialmente a P_N e, simultaneamente, a aplicação de 25 μM de Se agravou os efeitos da salinidade e reduziu ainda mais a P_N . (Figura 13B, D, F e H).

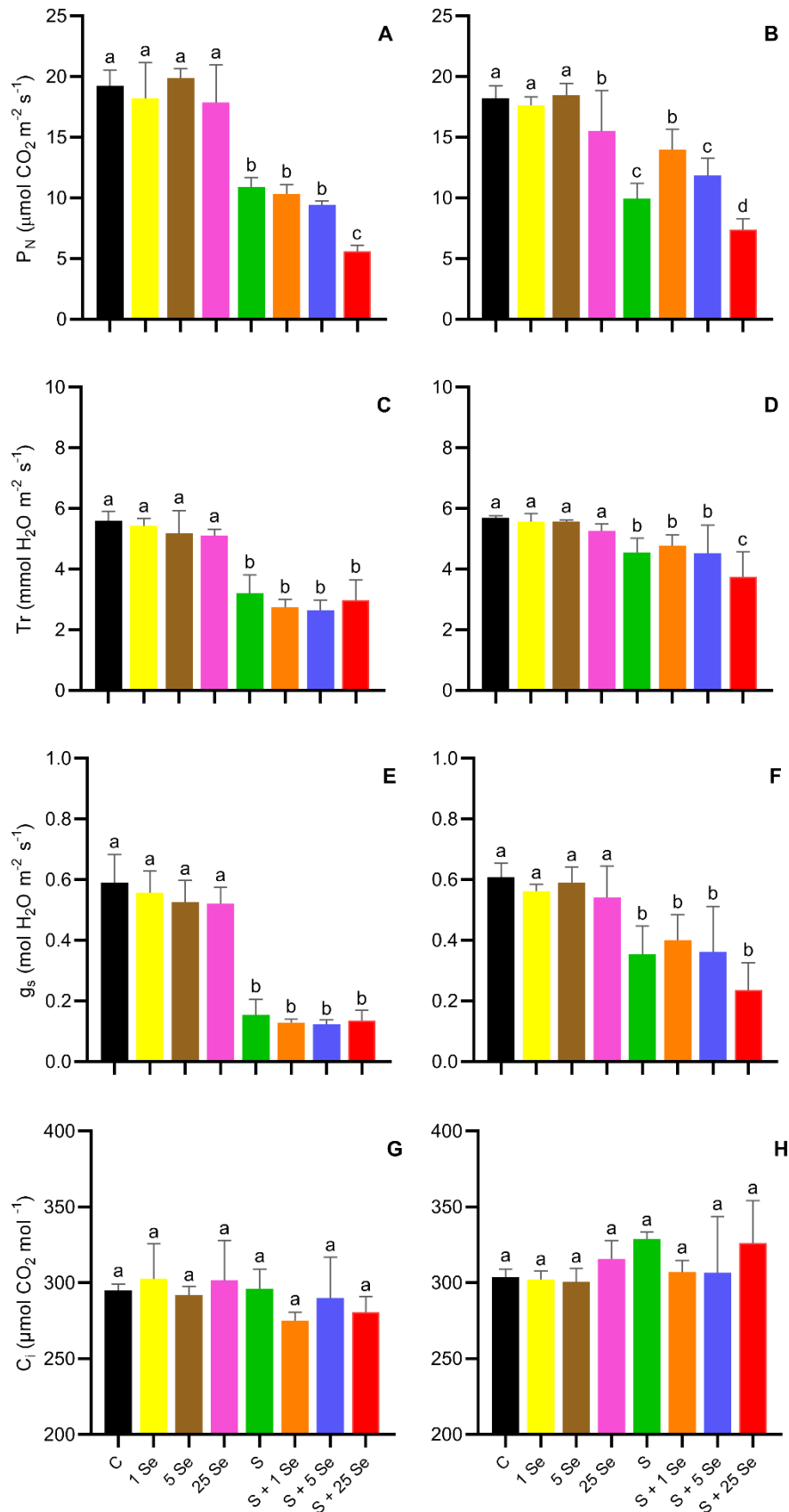


Figura 13: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre a taxa de fotossíntese líquida (P_N), taxa de transpiração (T_R), condutância estomática (g_s) e concentração interna de CO_2 (C_i) em folhas de mudas de eucalipto (VCC 865: A, C, E, G; e AEC 0144: B, D, F e H) após 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S). As médias ($n = 4$) seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0.05$). As barras representam o erro padrão da média.

Assim como no genótipo anterior, a T_R e a g_s foram significativamente reduzidas pelo cultivo em condições salinas e a aplicação de diferentes concentrações de Se (1, 5 e 25 μM) não foi capaz de atenuar os da salinidade. A C_i tanto de VCC 865 quanto de AEC 0144 não foi significativamente afetada por nenhum dos tratamentos realizados.

3.6. TEOR DE PIGMENTOS

No genótipo VCC 865, após 60 dias, as plantas controle e as tratadas apenas com Se (1, 5 e 25 μM) não apresentaram diferenças significativas no teor de chl a , chl $a+b$ e carotenoides, bem como nas razões a/b e chl $a+b$ /carotenoides quanto comparadas as plantas cultivadas em condições salinas (com 1 μM e sem aplicação de Se) (Tabela 4). Contudo, a aplicação das maiores concentrações de Se (5 e 25 μM) nas plantas cultivadas em condições salinas foi capaz de reduzir significativamente o teor de chl a , chl b e chl $a+b$.

Já o genótipo AEC 0144, após 60 dias, apresentou poucas alterações no teor de pigmentos em função dos tratamentos realizados, sendo a mais significativa a redução da taxa a/b das plantas cultivadas em condições salinas (com 5 μM e sem aplicação de Se), quando comparadas as plantas controle e as tratadas apenas com Se (1, 5 e 25 μM).

Tabela 4: Efeitos da aplicação de selênio (Se) sobre o teor de pigmentos de plantas de dois clones de eucalipto, após 60 dias de cultivo ou não em condições salinas (S).

Genótipo	Tratamento	Chl a ¹	Chl b ¹	$a+b$ ¹	Taxa a/b	$x+c$ ¹	$(a+b) / (x+c)$
VCC 865	C	11,27 ab	4,06 bc	15,33 ab	2,78 a	2,60 a	6,02 ab
	1 Se	9,41 bc	3,94 bc	13,86 bc	2,44 ab	2,23 a	6,19 ab
	5 Se	10,10 bc	3,76 bc	13,35 bc	2,71 ab	2,29 a	6,06 ab
	25 Se	9,76 bc	3,69 bc	13,45 bc	2,65 ab	2,29 a	5,94 ab
	S	12,94 a	5,32 a	18,26 a	2,45 ab	2,72 a	6,79 a
	S + 1 Se	11,01 ab	4,79 ab	15,81 ab	2,30 b	2,24 a	7,05 a
	S + 5 Se	8,21 c	3,17 c	11,37 c	2,59 ab	2,15 a	5,27 b
	S + 25 Se	7,89 c	3,07 c	10,96 c	2,57 ab	2,20 a	4,98 b
AEC 0144	C	13,86 a	5,43 a	19,29 a	2,52 a	3,43 a	5,67 ab
	1 Se	14,06 a	5,74 a	19,80 a	2,49 a	3,43 a	5,73 ab
	5 Se	13,62 ab	5,48 a	19,10 a	2,48 a	3,20 a	6,00 a
	25 Se	11,68 ab	4,79 a	16,47 a	2,45 a	2,86 a	5,76 ab
	S	10,09 ab	4,92 a	15,00 a	2,04 b	2,91 a	5,12 ab
	S + 1 Se	13,48 ab	5,53 a	19,01 a	2,44 a	3,35 a	5,66 ab
	S + 5 Se	9,63 b	4,88 a	14,51 a	1,97 b	2,92 a	4,95 b
	S + 25 Se	11,87 ab	5,15 a	17,02 a	2,30 a	3,16 a	5,39 ab

Nota: As médias ($n = 4$) seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($p < 0.05$). Onde: VCC 865 (*E. urograndis*); AEC 0144 (*E. urophylla*); e C = controle. ¹mg g⁻¹ MS.

4. DISCUSSÃO

O cultivo dos genótipos VCC 865 e AEC 0144 em condições salinas aumentou a concentração de íons Na^+ e reduziu a de íons K^+ e Ca^{2+} nos tecidos vegetais afetando drasticamente as relações K^+/Na^+ e $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$, bem como o crescimento, a biomassa, as trocas gasosas e a fluorescência. Está bem relatado que a proporção adequada de K^+/Na^+ nos tecidos vegetais é fundamental para a manutenção do ajuste osmótico celular, abertura e fechamento estomático, fotossíntese, ativação de enzimas e síntese de proteínas (HAWRYLAK-NOWAK, 2009). A similaridade entre Na^+ e K^+ , faz que o excesso Na^+ compita com K^+ pelos sítios de absorção e, conseqüentemente, restrinja a assimilação de K^+ (ISLAM et al., 2017). Neste sentido, a toxicidade provocada por Na^+ está relacionada, principalmente, à interferência no metabolismo do K^+ e na inativação deste como estimulador de diversas enzimas (SCHMÖCKEL e JARVIS, 2017). Ademais, em grandes concentrações no citosol, o Na^+ substitui o Ca^{2+} das membranas e pode afetar a permeabilidade celular (WILLADINO e CAMARA, 2010).

Apesar do aumento da concentração de Na^+ nas raízes das plantas de VCC 865 e AEC 0144 cultivadas em condições salinas, as folhas foram responsáveis pelo maior acúmulo destes íons. Isso ocorre, pois, a primeira linha de defesa contra o estresse salino é formada pelas raízes e a principal resposta de proteção, para retardar os efeitos da toxicidade dos altos níveis de Na^+ , é a exclusão dos íons Na^+ pelas células radiculares (JI et al., 2013). Outros mecanismos para tolerar o excesso de Na^+ incluem a translocação deste para compartimentos intracelulares e deposição preferencial nas folhas em folhas mais velhas e fotossinteticamente menos ativas (SCHMÖCKEL e JARVIS, 2017) e vão ao encontro do exposto por Willadino e Camara (2010), de que sob estresse salino, as raízes exportam os íons Na^+ para o solo ou para a parte aérea. Por isso, o acúmulo de íons Na^+ nas folhas, transportados pela corrente transpiratória no xilema e acumulados após a transpiração da água, torna-as mais vulneráveis ao excesso de Na^+ .

Também foi observado, em ambos os genótipos, que o acúmulo de Na^+ nas folhas aos 60 dias de cultivo em condições salinas, promoveu lesões e abscisão foliar (disponível no Apêndice), bem como reduziu drasticamente a fotossíntese. De acordo com Willadino e Camara (2010), a concentração de Na^+ nos tecidos vegetais aumenta conforme o tempo de exposição, causando lesões e injúrias principalmente nas folhas mais velhas.

Neste experimento, o cultivo das plantas de VCC 865 e AEC 0144 em condições salinas também diminuiu a altura, D_c , P_N e F_v/F_m . Segundo Zhao et al. (2020), a redução das variáveis de crescimento, biomassa, trocas gasosas e fluorescência observado nas plantas cultivadas em

condições salinas reforçam que a alta salinidade é responsável por induzir o fechamento estomático (reduzindo a absorção de CO₂), reduzir a eficiência do aparato fotossintético, aumentar a produção de EROs (estresse oxidativo), causar danos à membrana do tilacoide, prejudicar a homeostase osmóticas e iônica (estresse osmótico) e interromper a renovação de proteínas (ZHAO *et al.* 2020). Além disso, redução da P_N em condições salinas pode ser atribuída à redução da g_s e/ou ao declínio no teor de pigmentos fotossintéticos (KWON; MEKAPOGU; KIM, 2019). Assim, como não foi observado a redução nos teores de clorofilas e carotenoides em função do cultivo em condições salinas neste experimento, é provável que a redução na P_N seja atribuída a redução da g_s.

Provavelmente, a redução da altura e D_c das plantas de VCC 865 e AEC 0144 cultivadas em condições salinas, ocorreu devido ao gasto energético utilizado no processo de osmorregulação, pois, segundo Willadino e Camara (2010), a manutenção do processo de homeostase, que requer energia constante para movimentar os íons entre o vacúolo e o citoplasma, e implica no desvio dos fotossimilados que deveriam ser investidos em crescimento e produção.

A tolerância de uma planta, geralmente, está relacionada a quantidade de biomassa produzida em condições salinas, comparadas a biomassa produzida em condições controle (Dias *et al.*, 2016) e, neste cenário, os resultados encontrados sugerem que tanto o genótipo VCC 865 quanto AEC 0144 possuem certa tolerância ao estresse salino. Os resultados encontrados vão ao encontro do relatado por Botelho *et al.* (2017), que estudando os efeitos da salinidade sobre o crescimento e morfologia de diferentes genótipos de eucalipto concluiu que VCC 865 é mais tolerante ao estresse salino, quando comparado aos genótipos VCC 361, AEC 0144 e AEC 1528. Ainda, segundo o autor, VCC 865 foi classificado como genótipo extremamente tolerante e AEC 0144 como tolerante ao estresse salino. O potencial do genótipo VCC 865 como tolerante ao estresse salino também foi descrito por Castro-Filho *et al.* (2022), que avaliando a biomassa de genótipos de *Eucalyptus*, CO 1407 e VCC 865, irrigados com água salina durante 114 dias, mostrou que VCC 865 é mais tolerante à salinidade.

No cultivo sem salinidade, o efeito do Se sobre as plantas de VCC 865 e AEC 0144 foi dependente da dose utilizada. Em geral, independentemente do genótipo, a aplicação de níveis mais altos de Se (25 µM) reduziram o crescimento e a biomassa das plantas, porém não impactaram sobre a P_N, T_R, g_s, F_v/F_M e no teor de pigmentos. Ao mesmo tempo, a aplicação de níveis mais baixos de Se (1 µM) não impactou nenhum dos parâmetros avaliados. Observando como o Se contrapõe os efeitos da salinidade, notou-se que, 1 e 5 µM de Se foi capaz de reduzir

a concentração de íons Na^+ nas folhas e aumentar a eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m) nas plantas sob estresse salino. De acordo com Hasanuzzaman *et al.* (2020), ainda que os efeitos benéficos do Se nas plantas ainda não estejam esclarecidos, já foi documentado que a aplicação de baixos níveis de Se em plantas sob estresse podem proporcionar o aumento do crescimento, biomassa, síntese de pigmentos fotossintéticos, taxa fotossintética, trocas gasosas, acúmulo de osmoprotetores e metabólitos secundários.

Estudos como o de Hawrylak-Nowak *et al.* (2018) mostram o efeito benéfico de Se está associado ao aumento no teor de pigmentos fotossintéticos. No entanto, neste estudo, esse efeito não foi observado já que os pigmentos foram pouco influenciados tanto pela salinidade quanto pela aplicação de Se. Nossos resultados corroboram com os de Lacerda (2016) que estudando o estresse salino sobre o crescimento inicial de quatro genótipos de *Eucalyptus* (AEC 0144, AEC 1528, VCC 361 e VCC 865) observou que o teor de clorofilas totais não foi influenciado em função dos diferentes genótipos e/ou dos níveis de salinidade.

Por outro lado, os altos níveis (25 μM) de Se utilizados neste estudo não foram capazes de promoverem efeitos benéficos e, sendo assim, os resultados encontrados apontam que 25 μM de Se pode ser uma superdosagem para plantas do gênero *Eucalyptus*. Segundo Gupta e Gupta (2017), o excesso de Se pode promover a toxicidade às plantas seja pela indução do estresse oxidativo seja incorporação incorreta de SeCys/SeMet ao invés de Cys/Met na cadeia proteica, prejudicando tanto a estrutura quanto a função. Isso ocorre pois, de acordo com Brown e Shrift (1982), o Se é quimicamente muito semelhante ao enxofre (S) e o excesso de Se prejudica a competição com o S pela participação em reações bioquímicas.

O metabolismo do Se na célula vegetal têm início no cloroplasto, por meio da ação de enzimas anabólicas SO_4^{2-} (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020) e passa por diversos processos metabólicos até ser convertido em dimetilseleneto (DMSe) e volatilizado das folhas para a atmosfera (GUPTA e GUPTA, 2017). Isto pode explicar porque a aplicação de níveis adequados de Se podem atenuar os danos provocados aos cloroplastos pela condição de estresse (FENG; WEI; TU, 2012) e altos níveis de Se podem agravar os danos aos cloroplastos.

Por fim, a restauração da eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_m), promovida pela aplicação de Se em plantas de VCC 865 e AEC 0144 cultivadas em condições salinas, pode estar relacionada a redução na concentração de Na^+ nas folhas e a melhoria no processo de homeostase iônica. Esse comportamento foi observado em ambos os genótipos avaliados e, desse modo, indica que tal comportamento pode ser o padrão para o gênero *Eucalyptus*. Todavia, também foi observado que a aplicação de altos níveis de Se (25 μM) potencializou a

redução da P_N provocada pela salinidade em ambos os genótipos e, especialmente em VCC 865, potencializou a redução na F_v/F_M e no teor de clorofilas totais.

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados, conclui-se que:

- Os genótipos VCC 865 e AEC 0144 possuem mecanismos de tolerância ao estresse salino;
- No cultivo em condições salinas, a aplicação de 1 e 5 μM de Se foi capaz de reduzir a concentração de Na^+ nas folhas e de realizar a manutenção da eficiência quântica máxima do FSII (F_v/F_M) nas mudas de VCC 865 e AEC 0144;
- A fluorescência da Chl *a* se mostrou como uma técnica sensível e eficiente em detectar os efeitos da aplicação de Se em mudas de eucalipto cultivadas ou não em condições salinas;
- O teor de pigmentos cloroplastídicos não foi influenciado pela salinidade ou aplicação de Se.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZIZI, I.; ESMAIELPOUR, B.; FATEMI, H. Effect of foliar application of selenium on morphological and physiological indices of savory (*Satureja hortensis*) under cadmium stress. **Food Science & Nutrition**, v. 8, n. 12, p. 6539-6549, 2020.
- BOTELHO, V. V.; LACERDA, J. J.; CAIRO, P. A. R.; BARBOSA, R. P. Efeito da salinidade sobre características morfológicas de clones de *Eucalyptus* spp. durante o crescimento inicial. **Semana de Agronomia da UESB (SEAGRUS)** - ISSN 2526-8406, v. 1, n. 1, 2017.
- CASTRO FILHO, Manoel Nelson de et al. BIOMASS OF TWO *Eucalyptus* CLONES (*E. grandis* × *E. urophylla*) IRRIGATED WITH SALINE WATER. **Revista Árvore**, v. 46, 2022.
- CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 458-460, 1975.
- CUNHA, T. Q. G. DA; SANTOS, A. C.; NOVAES, E.; HANSTED, A. L. S.; YAMAJI, F. M.; SETTE JR, C. R. Eucalyptus expansion in Brazil: Energy yield in new forest frontiers. **Biomass and Bioenergy**, v. 144, p. 105900, 2021.
- DIAS, N. S.; BLANCO, F. F.; SOUZA, E. R.; FERREIRA, J. F. S.; NETO, O. N. S.; QUEIROZ, Í. Efeitos dos sais na planta e tolerância das culturas à salinidade (Salinity effects on plants and tolerance of crops to salinity). Book Chapter, p. 151-162, 2016.
- DONG, X.; SUN, L.; GUO, J.; LIU, L.; HAN, G.; WANG, B. Exogenous boron alleviates growth inhibition by NaCl stress by reducing Cl⁻ uptake in sugar beet (*Beta vulgaris*). **Plant and Soil**, v. 464, n. 1-2, p. 423-439, 2021.
- FAO - Food and agriculture organization of the united nations. 2021. World map of salt-affected soils launched at virtual conference. Rome. Disponível em: <<https://www.fao.org/newsroom/detail/salt-affected-soils-map-symposium/en>>, Acesso em: 20 maio 2023.
- FENG, Renwei; WEI, Chaoyang; TU, Shuxin. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and experimental botany**, v. 87, p. 58-68, 2013.
- FLORA E FUNGA DO BRASIL. Eucalyptus in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB614473>>. Acesso em: 24 abr. 2023.
- GUPTA, M.; GUPTA, S. An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2017.
- HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; RAZA, A.; HAWRYLAK-NOWAK, B.; MATRASZEK-GAWRON, R.; MAHMUD, J. AL; NAHAR, K.; FUJITA, M. Selenium in plants: Boon or bane? **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, p. 104170, 2020.
- HAWRYLAK-NOWAK, B. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. **Biological trace element research**, v. 132, p. 259-269, 2009.
- IBÁ – INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. 2022. Brasília. Relatório Ibá. 96p. Disponível em: <<https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorio-anual-iba2022-compactado.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2023.

- ISLAM, Faisal et al. 2, 4-D attenuates salinity-induced toxicity by mediating anatomical changes, antioxidant capacity and cation transporters in the roots of rice cultivars. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 10443, 2017.
- Ji, Hongtao et al. The salt overly sensitive (SOS) pathway: established and emerging roles. **Molecular plant**, v. 6, n. 2, p. 275-286, 2013.
- JIANG, C.; ZU, C.; LU, D.; ZHENG, Q.; SHEN, J.; WANG, H.; LI, D. Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na⁺ accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 42039, 2017.
- KWON, Oh Keun; MEKAPOGU, Manjulatha; KIM, Ki Sun. Effect of salinity stress on photosynthesis and related physiological responses in carnation (*Dianthus caryophyllus*). **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 60, p. 831-839, 2019.
- LACERDA, J. J. **Estresse Salino E Seus Efeitos no Crescimento Inicial de Clones de *Eucalyptus spp.*** 2016. 123 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista. 2016.
- LORENZI, Harri J.; BACHER, Luís Benedito; TORRES, Mario Antônio Virmond. **Árvores e arvoretas exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas.** Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2018.
- MALAVOLTA, E. A.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba, POTAFOS, 1997. 201p.
- REIS, L. A. C.; OLIVEIRA, J. A. de; FARNESE, F. dos S.; ROSADO, A. M.; REIS, L. A. C. Chlorophyll fluorescence and water content parameters are good biomarkers for selecting drought tolerant *Eucalyptus* clones. **Forest Ecology and Management**, v. 481, p. 118682, 2021.
- SCHMOECKEL, Sandra Manuela; JARVIS, David Erwin. Salt stress. **Elsevier**, 2017.
- SHRIVASTAVA, P.; KUMAR, R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi journal of biological sciences**, v. 22, n. 2, p. 123-131, 2015.
- SOHAG, A., TAHJIB-UL-ARIF, M.; BRESTIC, M.; AFRIN, S.; SAKIL, M. A.; HOSSAIN, M. T.; HOSSAIN, M. A. Exogenous salicylic acid and hydrogen peroxide attenuate drought stress in rice. **Plant, Soil and Environment**, v. 66, n. 1, p. 7-13, 2020.
- SRIVASTAVA, P.; WU, Q. S.; GIRI, B. Salinity: an overview. **Microorganisms in saline environments: strategies and functions**, p. 3-18, 2019.
- STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M; SRIVASTAVA, A. Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient. In: PAPAGEORGIOU, G. C.; GOVINDJEE (Ed.). **Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis.** Dordrecht: Springer Netherlands, 2004.
- TRIPATHI, D. K.; SINGH, S.; SINGH, S.; CHAUHAN, D. K.; DUBEY, N. K.; PRASAD, R. Silicon as a beneficial element to combat the adverse effect of drought in agricultural crops: capabilities and future possibilities. **Water stress and crop plants: a sustainable approach**, v. 2, p. 682-694, 2016.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of plant physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

WILLADINO, Lilia; CAMARA, Terezinha. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, n. 11, 2010.

ZHAO, C.; ZHANG, H.; SONG, C.; ZHU, J. K.; SHABALA, S. Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. **The innovation**, v. 1, n. 1, 2020

**CAPÍTULO 2 – O SELÊNIO MELHORA O DESEMPENHO DO COMPLEXO
ANTENA II E A CONSERVAÇÃO DE ENERGIA NO APARATO
FOTOSSINTÉTICO DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES
SALINAS**

SANTOS JUNIOR, R. N. **O selênio melhora o desempenho do complexo antena II e a conservação de energia no aparato fotossintético de mudas de eucalipto cultivadas em condições salinas.** 2023. 95f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, UFES, Espírito Santo. Brasil.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da aplicação de diferentes doses de selênio sobre a fluorescência da clorofila *a* em plantas de dois genótipos de eucalipto (VCC 865 e AEC 0144) tratadas com NaCl, por meio dos transientes OJIP e do teste-JIP. O experimento foi instalado num delineamento inteiramente casualizado com os seguintes tratamentos: controle, 1 Se, 5 Se, 25 Se, NaCl, NaCl + 1 Se, NaCl + 5 Se e NaCl + 25 Se. Cada genótipo foi avaliado individualmente. Após 60 dias de tratamento, a fluorescência foi determinada com um fluorômetro Handy-PEA. Os resultados obtidos mostraram que baixas doses de selênio foram capazes de atenuar os distúrbios observados sobre a banda-L. Contudo, não observamos os mesmos efeitos sobre a banda-K. A aplicação de baixas doses de selênio também foi eficiente em atenuar os efeitos da exposição à salinidade nos parâmetros do teste-JIP (Area, ABS/RC, RE₀/RC, ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}). Os autovalores obtidos no PCA, independentemente dos genótipos, mostraram um padrão de agrupamento dos dados em relação aos níveis dos tratamentos. Finalmente, concluímos que baixas doses de selênio foram capazes de atenuar os efeitos da exposição à salinidade sobre a fluorescência de plantas de eucalipto, entretanto, mais estudos devem ser realizados para ampliar o conhecimento acerca do funcionamento do selênio como elemento atenuador de estresse em espécies florestais.

Palavras-chave: AEC 0144 •, curva OJIP • fluorescência da clorofila *a* • teste-JIP • VCC 865

SANTOS JUNIOR, R. N. **Selenium improves the performance of the light-harvesting complex II and energy conservation in the photosynthetic apparatus of eucalyptus seedlings grown in saline conditions.** 2023. 95f. Thesis (Doctoral in Plant Biology) – Postgraduation Program in Plant Biology, UFES, Espírito Santo. Brazil.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of applying different doses of selenium on chlorophyll *a* fluorescence in plants of two eucalyptus genotypes (VCC 865 and AEC 0144) treated with NaCl, using the OJIP transients and the JIP test. The experiment was carried out in a completely randomized design with the following treatments: control, 1 Se, 5 Se, 25 Se, NaCl, NaCl + 1 Se, NaCl + 5 Se and NaCl + 25 Se. Each genotype was evaluated individually. After 60 days of treatment, fluorescence was determined with a Handy-PEA fluorometer. The results obtained showed that low doses of selenium were able to attenuate the disturbances observed in the L-band. However, we did not observe the same effects on the K-band. The application of low doses of selenium was also efficient in attenuating the effects of exposure to salinity on the JIP test parameters (Area, ABS/RC, RE₀/RC, ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}). The eigenvalues obtained in the PCA, regardless of the genotypes, showed a pattern of data clustering in relation to treatment levels. Finally, we concluded that low doses of selenium were able to attenuate the effects of exposure to salinity on the fluorescence of eucalyptus plants. However, more studies must be carried out to expand knowledge about the functioning of selenium as a stress attenuating element in forest species.

Keywords: AEC 0144 • fluorescence of chlorophyll *a*, • JIP-test • OJIP curve • VCC 865

1. INTRODUÇÃO

O eucalipto (*Eucalyptus* L'Hér.) é uma cultura florestal, de ampla importância econômica, caracterizada pelo rápido crescimento e adaptabilidade. Os plantios da espécie são voltados para a produção de celulose, energia, madeira, óleos e outros produtos (STANTURF *et al.*, 2013). No mundo, as florestas plantadas de eucalipto correspondem a mais de 22,5 milhões de hectares com distribuição em mais de 95 países (HUA *et al.*, 2022). Segundo Stanturf *et al.* (2013), mais de 90% das plantações ao redor do mundo são compostas pelas espécies *E. camaldulensis*, *E. dunnii*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. nitens*, *E. pellita*, *E. saligna*, *E. tereticornis* e *E. urophylla* e seus híbridos. Embora o Brasil possua cerca de 5,6 milhões de hectares de florestas plantadas de eucalipto (CUNHA *et al.*, 2021), a salinização dos solos tem sido apontada como uma das principais limitações ao cultivo da espécie em diversas partes do país, principalmente, nas regiões semiáridas (LACERDA, 2016).

De acordo com a FAO (2008), a salinidade afeta mais de 800 milhões de hectares em todo o mundo. Diante disso, o estresse salino é considerado como um dos principais fatores ambientais responsáveis por restringir a produtividade global (HE *et al.*, 2020). A alta salinidade está associada ao estresse osmótico e a toxicidade iônica, além de promover efeitos secundários que reduzem a taxa de fotossíntese, o crescimento, a biomassa e induzem a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) (JIANG *et al.*, 2017; LINIĆ *et al.*, 2021). Portanto, é essencial que haja o desenvolvimento de estratégias que visem auxiliar uma melhor utilização dos recursos terrestres (ZHANG *et al.*, 2013) e que contribuam com o aumento da produtividade global.

Estudos recentes têm mostrado que a aplicação de baixas doses de selênio (Se) tem sido benéfica ao desenvolvimento vegetal em condições de estresse, embora o Se não seja um elemento essencial às plantas (JIANG *et al.*, 2017; HASANUZZAMAN *et al.*, 2020). Quando aplicado em doses adequadas o selênio pode aumentar a síntese de pigmentos, as trocas gasosas, a taxa fotossintética, o acúmulo de osmoprotetores, o aprimoramento do sistema de defesa antioxidante e, portanto, estimular a tolerância em condições de salinidade, seca, calor e metais pesados (JIANG *et al.*, 2017; GUPTA e GUPTA, 2017; HASANUZZAMAN *et al.*, 2020). Contudo, em excesso, o selênio pode induzir a formação de EROs e prejudicar os processos fisiológicos de crescimento e desenvolvimento vegetal HASANUZZAMAN *et al.* (2020). Isso ocorre, pois a toxicidade do selênio é consequência do seu acúmulo no interior da célula vegetal e da competição deste com o enxofre (S) pelas reações bioquímicas, devido à similaridade química estrutural entre ambos (BROWN; SHRIFT, 1982).

Neste sentido, grande parte dos estudos desenvolvidos para verificar a atuação do selênio como substância capaz de atenuar estresses abióticos como a salinidade tem sido voltado para culturas herbáceas e arbustivas de importância alimentícia como *Zea mays* L. (JIANG *et al.*, 2017), *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (SILVA *et al.*, 2018), *Solanum lycopersicum* L. (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2019) e *Punica granatum* L. (ZAHEDI *et al.*, 2019), demandando a execução de experimentos voltados às espécies florestais.

Uma vez que a aplicação de selênio poder atuar sobre a síntese de pigmentos e sobre a taxa fotossintética (HASANUZZAMAN *et al.*, 2020), o uso de técnicas que avaliem a fluorescência da clorofila a (Fl Chl *a*) tornam-se amplamente viáveis. As análises de Fl Chl *a* são não destrutivas, de fácil coleta e muito sensíveis, isto é, sendo capazes de detectar o estresse nos estágios iniciais (KALAJI *et al.*, 2016). Por estes motivos, a Fl Chl *a* tem sido amplamente utilizada para detectar estresses abióticos em plantas como seca (KALAJI *et al.*, 2018), salinidade (JIANG *et al.*, 2017), calor (DOĞRU, 2021), frio (MLINARIĆ *et al.*, 2020), luminosidade (OLIWA; SKOCZOWSKI, 2019) e metais pesados (PAUNOV *et al.*, 2018; HUIHUI *et al.*, 2020).

O foco dos estudos relacionados a Fl Chl *a* tem sido o comportamento polifásico da curva OJIP, denominado de transiente OJIP (TSIMILLI-MICHAEL, 2020), bem como todas as bandas entre os pontos O-P, pois permitem obter com riqueza de informações o impacto do estresse em diferentes locais do aparato fotossintético (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2013). Além disso, também tem sido amplamente utilizado o teste-JIP, desenvolvido por Strasser e Strasser (1995), o qual traduz a curva OJIP em parâmetros biofísicos (STRASSER *et al.*, 2004; TSIMILLI-MICHAEL, 2020).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da aplicação de diferentes doses de selênio sobre a Fl Chl *a* em plantas de dois genótipos de eucalipto tratadas com NaCl, por meio dos transientes OJIP e do teste-JIP. As hipóteses que motivaram esse trabalho foram: (i) a aplicação de baixas doses de selênio atenua os efeitos do estresse salino sobre o aparato fotossintético de mudas de *Eucalyptus* spp.; e (ii) o aparato fotossintético de diferentes genótipos de *Eucalyptus* spp., respondem de forma distinta à aplicação de selênio em condições de estresse salino.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL VEGETAL E DESIGN EXPERIMENTAL

O estudo foi realizado em casa de vegetação, na área experimental da Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil (20°16'29''S, 40°18'21''W, atl. 4 m), durante o período de 08 de outubro de 2021 a 23 de dezembro de 2021. Foram utilizadas mudas de dois clones comerciais de *Eucalyptus* spp., VCC 865 (*E. urograndis*) e AEC 0144 (*E. urophylla*), adquiridas em idade de expedição (90 dias) do viveiro ClonaTech (19°10'58''S, 40°5'32''W, alt. 57 m).

As mudas adquiridas, produzidas inicialmente em tubetes, foram transplantadas para vasos de 12 L (25 cm x 30 cm x 22 cm) preenchidos com areia lavada, previamente peneirada em malha de 5 mm. Imediatamente após o transplante, cada vaso recebeu 2,8 L de solução nutritiva de Clark (1975), cuja quantidade foi suficiente para atingir a capacidade máxima de retenção do vaso (Tabela 5). As plantas foram submetidas a um período de adaptação à solução nutritiva com 50% e 100% de força iônica, permanecendo em cada nível por uma semana. O pH da solução nutritiva foi ajustado para permanecer em 5,5, utilizando HCl ou NaOH, ambos a 0,1 M.

Tabela 5: Composição da solução nutritiva de Clark (1975).

Solução estoque	Concentração	Vol. para a solução nutritiva (ml L ⁻¹)
KNO ₃	1 M	1,8
Ca(NO ₃) ₂	1 M	2,6
MgSO ₄	1 M	0,085
MgCl ₂	1 M	0,515
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,1 M	0,7
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 M	0,415
Micro-Fe	*	1
Fe-EDTA	**	0,4

*Micronutrientes (g L⁻¹): MnSO₄.1H₂O = 1,183; H₃BO₃ = 1,175; ZnSO₄.7H₂O = 0,575; Na₂MoO₄.2H₂O = 0,145; CuSO₄.5H₂O = 0,125.

**Foram dissolvidos 33,3 g de Na₂-EDTA em 500 ml de água contendo 100,4 ml de NaOH 1M. Logo após, adicionou-se 24,9 g de FeSO₄.7H₂O à solução e, após a homogeneização, a mesma posta para arejar durante 12 h. Por fim, o volume foi completado até 1 L com água deionizada.

2.2. TRATAMENTOS E CONDIÇÕES DE CULTIVO

Após 14 dias de aclimação, as mudas foram submetidas a diferentes tratamentos, durante 60 dias, montados em um delineamento inteiramente casualizado com os seguintes tratamentos: controle (0 µM de Se e 0 mM de NaCl), 1 Se (1 µM de Se e 0 mM de NaCl), 5 Se

(5 μM de Se e 0 mM de NaCl), 25 Se (25 μM de Se e 0 mM de NaCl), NaCl (0 μM de Se e 100 mM de NaCl), NaCl + 1 Se (1 μM de Se e 100 mM de NaCl), NaCl + 5 Se (5 μM de Se e 100 mM de NaCl) e NaCl + 25 Se (25 μM de Se e 100 mM de NaCl). Cada genótipo foi avaliado individualmente diante dos tratamentos, ou seja, cada genótipo constituiu em um experimento independente. Cada experimento incluiu um genótipo e oito tratamentos com quatro unidades amostrais ($n=4$), totalizando 32 plantas por experimento.

As concentrações de Se foram estabelecidas conforme a proposição de Jiang *et al.* (2017) e como fonte de selênio foi utilizado o selenito de sódio (Na_2SeO_3), por ser mais eficiente que o selenato de sódio (Na_2SeO_4) para atenuar os efeitos da salinidade (HAWRYLAK-NOWAK, 2009). Ao longo do experimento, realizou-se a irrigação diária (solução nutritiva + tratamentos), em quantidade suficiente para drenar 10% da capacidade máxima de retenção do vaso e, a cada semana, a irrigação foi realizada até drenar 40% da capacidade máxima de retenção do vaso. Este procedimento foi realizado de acordo com Lacerda (2016) e visou evitar a concentração de sais na solução nutritiva dos vasos. A salinidade dos vasos foi monitorada por meio de condutivímetro (Digimed CD-20).

2.3. MEDIDAS DE FLUORESCÊNCIA DA CLOROFILA *a*

A Fl Chl *a* foi medida usando um fluorômetro portátil Handy-PEA (Hansatech Instrument, King's Lynn, UK), entre 7:00 e 8:00 h da manhã, na porção mediana de folhas jovens completamente expandidas (4° ou 5° a partir do ápice), previamente adaptadas a 40 minutos de escuro, por meio de cliques foliares (Hansatech), a fim de que todos os centros de reação (RC) estivessem completamente oxidados. A fluorescência transiente da clorofila *a* foi induzida por um pulso de luz actínica (650 nm) com intensidade de 3000 μmol (fótons) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e registrada de 10 μs até 1s. A intensidade de fluorescência aos 20 μs (considerada como F_0), 300 μs (F_K), 2ms (F_J), 30ms (F_I) e 300ms (F_M ou F_P) foi usada para calcular os parâmetros do teste-JIP (TSIMILLI-MICHAEL, 2020). Os resultados obtidos foram compilados nos *softwares* PEA Plus v1.11 e MS Excel 2019.

A fluorescência variável relativa de cada ponto foi calculada pela equação: $V_t = (F_t - F_0 / F_M - F_0)$, onde V_t é o valor da fluorescência variável relativa no momento t ; F_t é o nível de fluorescência no momento t ; F_0 é nível mínimo de fluorescência; e F_M é o nível máximo de fluorescência. Em seguida, utilizou-se os valores de V_t (cada ponto) para gerar as curvas diferenciais da Chl *a* (ΔV_t) subtraindo os valores normalizados da intensidade de fluorescência das plantas tratadas pela intensidade de fluorescência das plantas controle, por meio da equação:

$\Delta V_t = V_{t_{tratamento}} - V_{t_{controle}}$. Ademais, foram obtidos os ΔV_t para os intervalos O-P (ΔV_{OP}), O-K (ΔV_{OK}) e O-J (ΔV_{OJ}) (para mais informações, ver: Oliwa e Skoczowski, 2019; e Zagorchev *et al.*, 2021).

Além disso, foram calculados parâmetros do teste-JIP com base na teoria do fluxo de energia em biomembranas (STRASSER e STRASSER, 1995). As definições, equações e símbolos dos parâmetros do teste-JIP são descritos na Tabela 2.

Tabela 6: Definição dos parâmetros do teste JIP utilizados neste estudo (STRASSER et al. 2004; TSIMILLI-MICHAEL, 2020).

Parâmetro de Fluorescência	Equação	Descrição
$F_0 \cong F_{20\mu s}$		fluorescência quando todos os RC do FSII estão abertos
$F_J \cong F_{2ms}$		fluorescência no passo-J (2 ms) do O-J-I-P
$F_I \cong F_{30ms}$		fluorescência no passo-I (30 ms) do O-J-I-P
$F_M = F_P$		fluorescência máxima, quando todos os RC do FSII estão fechados
V_J	$= (F_J - F_0)/(F_M - F_0)$	fluorescência variável relativa no passo-J
V_I	$= (F_I - F_0)/(F_M - F_0)$	fluorescência variável relativa no passo-I
M_0	$\equiv 4 \times (F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$	inclinação inicial aproximada (em ms^{-1}) do transiente de fluorescência normalizado na fluorescência variável máxima $F_M - F_0 = F_V$; equivalente, inclinação inicial (50 a 300 μs ; em ms^{-1}) da cinética $V_t = f(t)$
Area		area complementar total entre a curva de indução à fluorescência e $F = F_P$ (significativo apenas quando $F = F_P$)
ABS/RC	$= M_0 \times (1/V_J) \times (1/\phi_{P_0})$	fluxo de absorção por RC
TR ₀ /RC	$= M_0 \times (1/V_J)$	fluxo de energia capturada (levando à redução da Q _A), por RC
ET ₀ /RC	$= M_0 \times (1/V_J) \times (1 - V_J)$	fluxo de transporte de elétrons (além da Q _A ⁻), por RC
RE ₀ /RC	$= M_0 \times (1/V_J) \times (1 - V_I)$	redução do fluxo de elétrons dos aceptores finais de elétrons do lado acceptor do FSI, por RC
ϕ_{P_0}	$\equiv TR_0/ABS$	rendimento quântico máximo para fotoquímica primária
ϕ_{E_0}	$\equiv ET_0/ABS$	rendimento quântico para o transporte de elétrons (ET)
ϕ_{R_0}	$\equiv RE_0/ABS$	rendimento quântico para a redução dos aceptores finais de elétrons no lado acceptor do FSI (RE)
ψ_{E_0}	$\equiv ET_0/TR_0$	eficiência/probabilidade com que um elétron se move para além da Q _A ⁻
δ_{R_0}	$\equiv RE_0/ET_0$	eficiência/probabilidade com que um elétron do intersistema é transferido para reduzir os aceptores finais do lado acceptor do FSI (RE)
RC/ABS	$= \frac{Y_{RC}}{1 - Y_{RC}}$	RCs por Chl <i>a</i> antena do FSII (recíproco de ABS/RC)
PI _{ABS}	$\equiv \frac{Y_{RC}}{1 - Y_{RC}} \times \frac{\phi_{P_0}}{1 - \phi_{P_0}} \times \frac{\psi_{E_0}}{1 - \psi_{E_0}}$	índice de desempenho para conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons do intersistema
PI _{total}	$\equiv PI_{ABS} \times \frac{\delta_{R_0}}{1 - \delta_{R_0}}$	índice de desempenho para conservação de energia dos fótons absorvidos pelo FSII até a redução dos aceptores finais do FSI

2.4. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foi realizada a Análise de Componentes Principais (PCA) para detectar variáveis que pudessem distinguir agrupamentos nos tratamentos propostos ($n = 4$). Para as análises foram selecionados os 12 parâmetros do teste-JIP com maior representatividade e analisadas no *software* RStudio v2021.9.2.382 utilizando os pacotes ‘FactorMiner’, ‘FactorExtra’ e ‘ggpubr’. Ademais, os resultados do índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons finais do FSI (PI_{total}) do teste-JIP, obtidos através de uma folha de cada unidade experimental ($n = 4$), foram analisados no *software* RStudio v2021.9.2.382 utilizando os pacotes “dplyr”, “rstatix” e “DescTools”. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias classificadas pelo teste de Duncan a um nível de significância de $p \leq 0,05$. A normalidade e homogeneidade dos dados foram testadas por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Leneve.

3. RESULTADOS

3.1. ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada em uma matriz de correlação para cada um dos genótipos de *Eucalyptus* spp., visando detectar os parâmetros do teste-JIP de maior importância na identificação do estresse salino e da atenuação destes pelas diferentes doses de selênio (Tabela 7). Os resultados mostraram que os autovalores dos dois primeiros componentes principais (PC 1 e PC 2) apresentaram uma taxa de contribuição acumulada de 88 e 80%, respectivamente para VCC 865 e AEC 0144, indicando estes dois componentes podem ser utilizados para explicar grande parte das variações em nossos dados. Para o genótipo VCC 865, o primeiro componente principal (PC 1) pode explicar 80% da variação total e está intimamente relacionado com as variáveis originais de Area, ABS/RC, RE₀/RC, φP₀, ψE₀, φE₀, φR₀, PI_{ABS} e PI_{total} (R = 0,808 – 0,973), refletindo um maior rendimento quântico e eficiências, bem como um maior índice de desempenho fotossintético.

Já o segundo componente principal (PC 2) pode explicar 8% da variação total e apresentou pouca relação frente as variáveis originais, sendo TR₀/RC e ET₀/RC (R = 0,217 – 0,471) as variáveis de maior associação à PC 2. Já no genótipo AEC 0144, a PC 1 pode explicar 66% da variação total e está mais relacionado às variáveis originais de Area, ABS/RC, φP₀, φE₀, φR₀, PI_{ABS} e PI_{total} (R = 0,761 – 0,954) ao passo que a PC 2, que pode explicar 15% da variação total, está mais relacionada ao TR₀/RC, RE₀/RC e δR₀ (R = 0,345 – 0,693), que refletem o fluxo de energia capturado que proporciona a redução da Q_A e a eficiência no fluxo de elétrons até os aceptores finais do FSI.

De acordo com os autovalores obtidos na PCA do genótipo VCC 865, há um padrão de agrupamento dos dados em função dos tratamentos realizados (Figura 14A e B). As plantas controle, juntamente com as plantas tratadas apenas com selênio (1, 5 e 25 μM) formaram um agrupamento a direita da PC 1, fortemente associados a escores positivos das variáveis que o compõe. As plantas sob estresse salino, formaram um agrupamento distinto sendo que as principais diferenças foram a redução da Area, RE₀/RC, φP₀, ψE₀, φE₀, φR₀, PI_{ABS} e PI_{total} e o aumento de ABS/RC e TR₀/RC. No entanto, a aplicação de 1 μM de Se foi capaz de reduzir os efeitos do estresse salino, aproximando este tratamento do agrupamento das plantas controle. Ao mesmo tempo, a aplicação de 5 e 25 μM de Se não foram capazes de promover estes efeitos e formaram um agrupamento distinto, situado a esquerda da PC 1 e, desta forma, fortemente associadas a baixos escores de rendimento quântico, eficiências e desempenho do aparato

fotossintético. No genótipo AEC 0144, os autovalores obtidos na PCA também proporcionaram um padrão de agrupamento para os tratamentos realizados (Figura 14C e D). As plantas sob estresse salino formaram um agrupamento coeso situado à esquerda da PC 1, sugerindo que baixos escores em Area, ABS/RC, φP_0 , φE_0 , φR_0 , PI_{ABS} e PI_{total} parecem ser os principais indicadores do estresse salino. Contudo, a aplicação de 1, 5 e 25 μM de Se foram capazes de recuperar, pelo menos parcialmente, as variáveis mencionadas aproximando o grupo formado por estes tratamentos do agrupamento das plantas controle e das tratadas apenas com selênio (1, 5 e 25 μM). Por fim, nota-se que em VCC 865 a aplicação de 1 μM de Se foi mais eficiente em atenuar os efeitos da salinidade, ao passo que em AEC 0144 a aplicação de 1, 5 e 25 μM de Se foram eficientes em atenuar os efeitos da salinidade e aproxima-los do agrupamento das plantas controle.

Tabela 7: Matriz de autovalores gerados na Análise de Componentes Principais (PCA).

Fator	VCC 865		AEC 0144	
	Componentes principais			
	PC 1	PC 2	PC 1	PC 2
Area	0,967	0,005	0,924	0,000
ABS/RC	0,808	0,043	0,792	0,014
TR_0/RC	0,558	0,217	0,267	0,345
ET_0/RC	0,490	0,471	0,417	0,000
RE_0/RC	0,835	0,000	0,393	0,490
φP_0	0,815	0,069	0,761	0,016
ψE_0	0,865	0,087	0,693	0,164
φE_0	0,958	0,000	0,953	0,010
δR_0	0,637	0,096	0,058	0,693
φR_0	0,973	0,005	0,954	0,024
PI_{ABS}	0,848	0,0083	0,830	0,044
PI_{total}	0,838	0,000	0,827	0,007
Autovalor	9,592	1,003	7,871	1,808
Percentual de variação	79,93%	8,36%	65,59%	15,07%
Percentual de variação cumulativo	88,29%		80,66%	

1, 5 e 25 μM Se foi eficiente em reduzir os efeitos do estresse salino, como observado por meio da recuperação dos pontos J, I e P (Figura 15B).

O comportamento polifásico da curva-OJIP, avaliado por meio da cinética de fluorescência variável entre os eventos das fases O-P (ΔV_{OP}), permitiu-nos localizar os sítios de ação do estresse salino e dos efeitos atenuantes da aplicação de selênio na cadeia transportadora de elétrons no lado aceptor do FSII (Figura 15C e D). Nas plantas de VCC 865, a salinidade promoveu aumentos expressivos do ΔV_{OP} nas fases O-J e J-I, que foram intensificados pela aplicação de 5 e 25 μM Se. Contudo, a aplicação de 1 μM Se foi capaz de atenuar os efeitos da salinidade na fase J-I. Em contraste, nas plantas de AEC 0144, o estresse salino promoveu um aumento substancial do ΔV_{OP} nas fases O-J e J-I e uma redução da fase I-P. Neste cenário, a aplicação de 1 e 5 μM Se foi capaz de atenuar tanto o aumento da fase J-I quanto a redução da fase I-P das plantas expostas à salinidade.

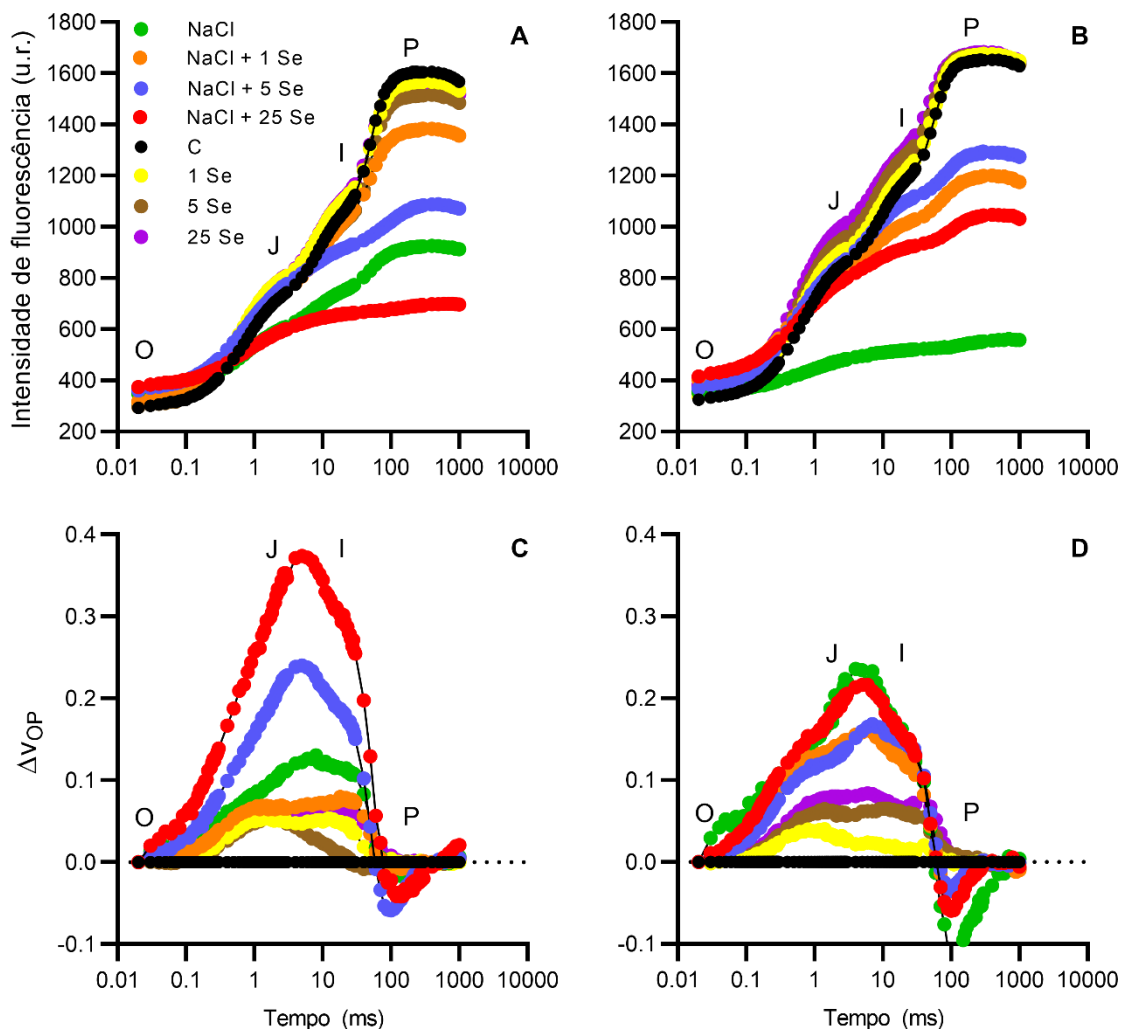


Figura 15: Efeitos da aplicação de diferentes dosagens de selênio em plantas de *Eucalyptus spp.* não estressadas ou estressadas por sal. Curva OJIP para o intervalo O-P (A: VCC 865; e B: AEC 0144) e Curvas diferenciais (ΔV_{OP}) para o intervalo O-P (C: VCC 865; e D: AEC 0144). As cores representam os tratamentos, (n = 4).

A fluorescência relativa entre os pontos O-K (ΔV_{OK}) e O-J (ΔV_{OJ}) foram calculadas de forma análoga a ΔV_{OP} e tornaram as bandas-L e K visíveis, com picos em 0,1 e 0,3 ms, respectivamente (Figura 16).

Nas plantas de VCC 865 expostas à salinidade houve uma diminuição da conectividade energética e da estabilidade do complexo de evolução do oxigênio (CEO), claramente marcados pela presença das banda-L e K positivas, respectivamente. No entanto, a aplicação de 1 μM Se foi capaz de recuperar a banda-L (Figura 16A), aproximando-a dos valores obtidos pelas plantas controle. Ao mesmo tempo, a aplicação de 1 e 5 μM Se nas plantas expostas à salinidade não foram eficientes em reduzir a amplitude positiva existente na banda-K. Por outro lado, a aplicação de 25 μM Se agravou em aproximadamente 20% o pico existente na banda-K (Figura 16C).

Nas plantas de AEC 0144, a aplicação de 1, 5 e 25 μM Se foi eficiente em reduzir os efeitos do estresse salino, recuperando parcialmente a conectividade energética, como observado por meio da redução da banda-L (Figura 16B). Entretanto, os mesmos efeitos não foram observados em relação a estabilidade do CEO, a qual manteve-se indiferente independentemente da dosagem de Se aplicado (Figura 16D).

Ademais, notamos que as plantas de AEC 0144 expostas à salinidade apresentaram picos mais elevados para as bandas-L e K que as plantas de VCC 865. Ambos os genótipos apresentaram semelhanças como uma ligeira melhora da conectividade energética (banda-L negativa) para as plantas tratadas apenas com selênio (1, 5 e 25 μM).

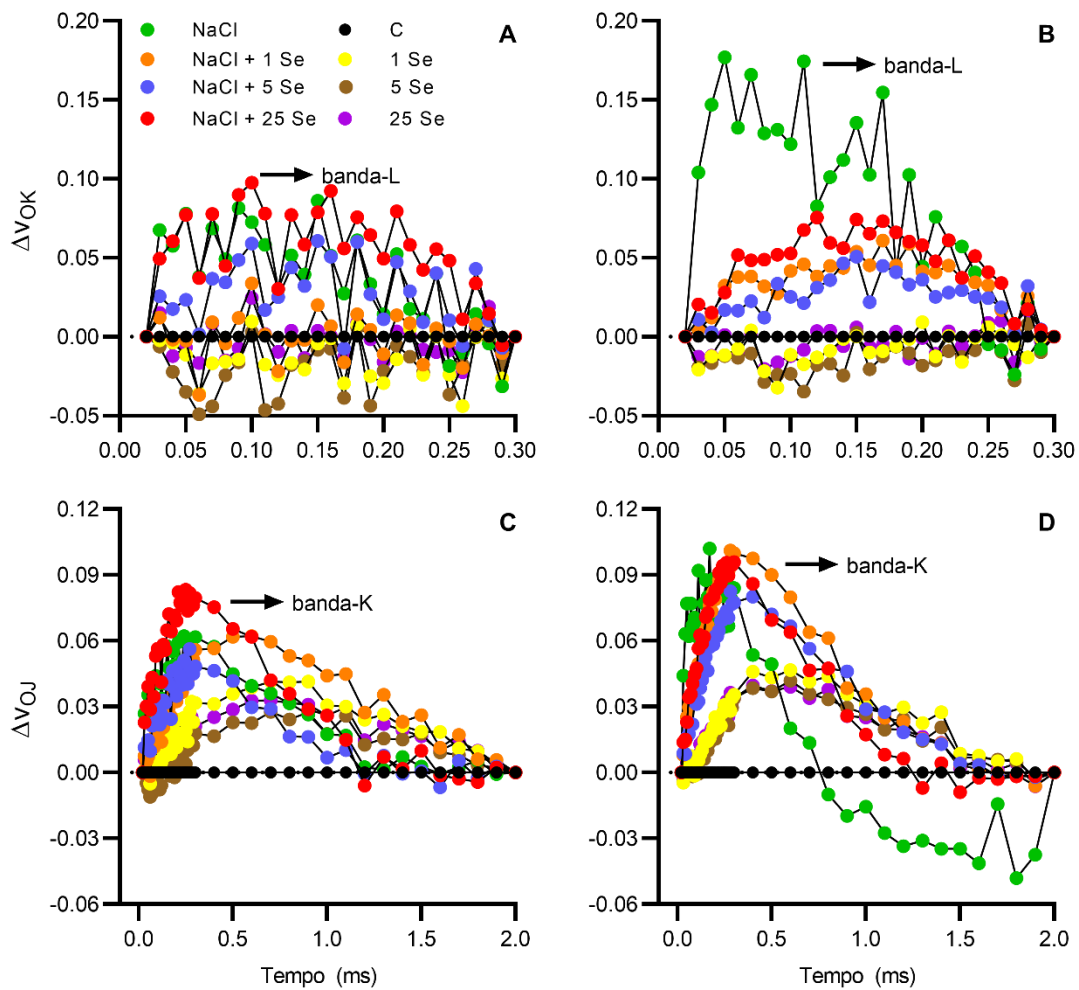


Figura 16: Efeitos da aplicação de diferentes dosagens de selênio em plantas de *Eucalyptus* spp. não estressadas ou estressadas por sal. Curvas diferenciais (ΔV_{OP}) para os intervalos O-K (A: VCC 865; e B: AEC 0144) e O-J (C: VCC 865; e D: AEC 0144). As cores representam os tratamentos, (n = 4).

A salinidade também afetou diversos parâmetros do teste-JIP como Area, ABS/RC, TR_0/RC , ET_0/RC , RE_0/RC , ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total} , em ambos os genótipos (Figura 17A e B). Nas plantas do genótipo VCC 865, houveram reduções dos parâmetros de Area (60%), ABS/RC (62%), RE_0/RC (38%), ϕP_0 (41%), ψE_0 (25%), ϕE_0 (53%), δR_0 (31%), ϕR_0 (62%), PI_{ABS} (72%) e PI_{total} (81%) devido ao estresse salino (Figura 17A). Ao mesmo tempo, também ocorreu o aumento do TR_0/RC em 30%. No entanto, a aplicação de 1 e 5 μM de Se reduziram os efeitos da salinidade, recuperando total ou parcialmente os parâmetros de Area, ABS/RC, RE_0/RC , ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total} , os quais foram mais evidentes sob 1 μM . Por outro lado, aplicação de 25 μM de Se agravou a supressão destes parâmetros.

Em AEC 0144, a salinidade promoveu reduções na Area (71%), ABS/RC (66%), RE_0/RC (34%), ϕP_0 (58%), ψE_0 (28%), ϕE_0 (71%), δR_0 (17%), ϕR_0 (74%), PI_{ABS} (97%) e PI_{total} (97%) (Figura 17B). Neste genótipo, a aplicação de 1, 5 e 25 μM de Se foram capazes de reduzir os

efeitos do estresse salino sobre os parâmetros de Area, ABS/RC, RE₀/RC, ET₀/RC, RE₀/RC, φP_0 , φE_0 , δR_0 , φR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}.

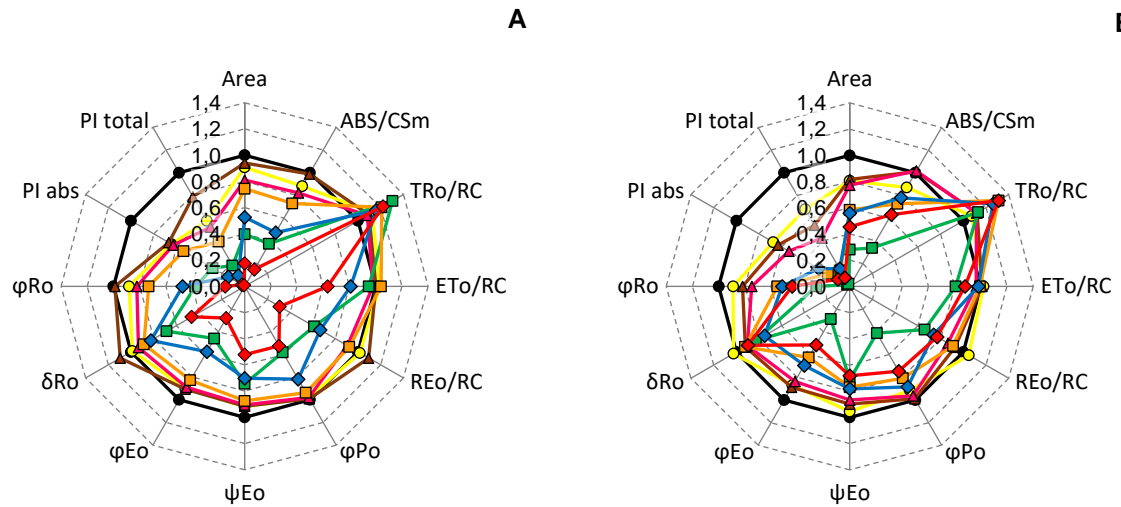


Figura 17: Gráfico radar representando os efeitos da aplicação de diferentes dosagens de selênio em 12 parâmetros do teste-JIP, em plantas de VCC 865 (A; *E. urograndis*) e AEC 0144 (B; *E. urophylla*) não estressadas ou estressadas por sal. Os valores apresentados foram normalizados usando como referências as plantas controle (C), n =4. Onde: C (●), 1 Se (●), 5 Se (▲), 25 Se (▲), NaCl (■), NaCl + 1 Se (■), NaCl + 5 Se (◆), NaCl + 25 Se (◆).

Ao decompor o PI_{total} em $\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$, $\varphi P_0/(1-\varphi P_0)$, $\psi E_0/(1-\psi E_0)$ e $\delta R_0/(1-\delta R_0)$, notamos que a salinidade afetou de forma diferente cada um dos componentes mencionados (Figura 18). Em ambos os genótipos, VCC 865 e AEC 0144, ocorreu uma redução significativa ($p \leq 0,05$) nos componentes do PI_{total} das plantas tratadas com sal. No entanto, as reduções mais significativas ocorreram em AEC 0144.

Nas plantas de VCC 865 cultivadas em condições salinas, a aplicação de 1 μM de Se nas capaz de recuperar o componente $\varphi P_0/(1-\varphi P_0)$ igualando-o significativamente ao das plantas controle (Figura 18A). Ao mesmo tempo, nas plantas do genótipo AEC 0144, a aplicação de 1, 5 e 25 μM de Se reduziu os efeitos do estresse salino sobre os componentes $\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$ e $\varphi P_0/(1-\varphi P_0)$ (Figura 18B). Contudo, a aplicação de selênio não foi capaz de igualar estes aos índices apresentados pelas plantas controle.

Ademais, não foram observadas alterações significativas no $\delta R_0/(1-\delta R_0)$ independentemente dos tratamentos em AEC 0144.

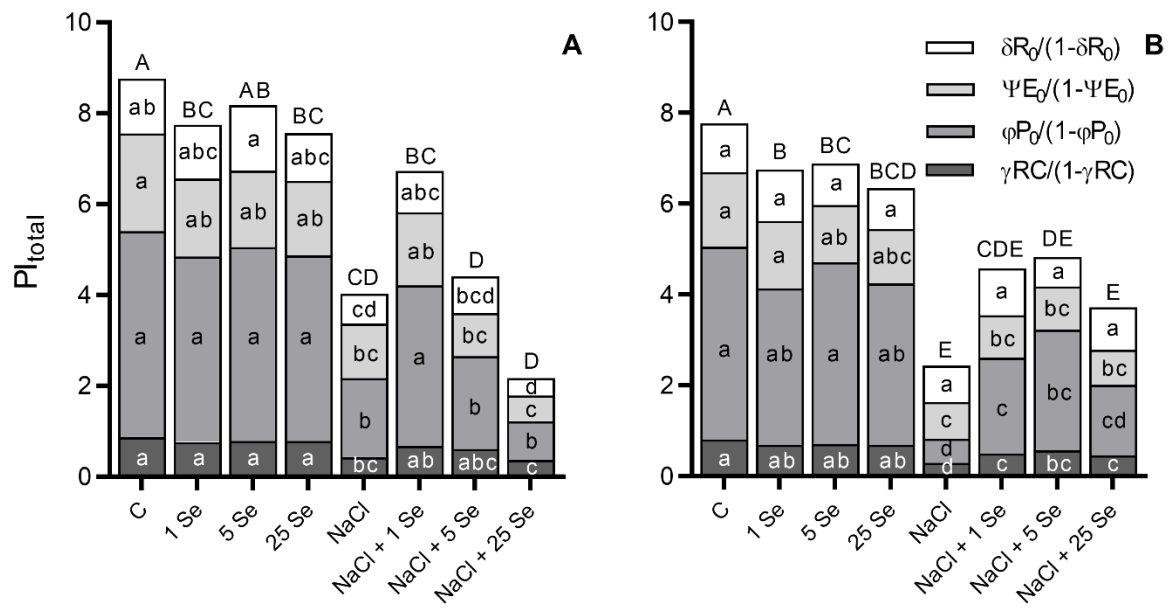


Figura 18: Variação do índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons finais do FSI (PI_{total}). A: VCC 865 (*E. urograndis*) e B: AEC 0144 (*E. urophylla*). As letras minúsculas comparam os diferentes parâmetros entre as colunas e as letras maiúsculas comparam as colunas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente em $p \leq 0,05$ pelo teste de Duncan, $n = 4$.

4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na PCA apontaram para uma sobreposição do tratamento controle e das plantas tratadas apenas com selênio tanto em VCC 865 quanto em AEC 0144. Segundo Dimitrova *et al.* (2020), a sobreposição dos elipsoides na PCA indica uma reação de estresse menos pronunciada. Assim, devido à tamanha proximidade das plantas controle com as plantas tratadas com selênio, sem a influência da salinidade, é possível supor que estas não tenham sofrido estresses significativos em virtude da aplicação das doses de 1, 5 e 25 μM de Se. Seguindo nesta linha, os grupos formados pelas plantas submetidas à salinidade, em ambos os genótipos, apresentaram-se mais distante em relação às plantas controle e concomitantemente com escores mais dispersos, ou seja, apontando para uma reação ao estresse mais pronunciada.

Portanto, a formação de um agrupamento entre as plantas controle e as plantas estressadas, representado pelas plantas expostas à salinidade e tratadas com 1 μM de Se em VCC 865 e 1, 5 e 25 μM de Se em AEC 0144, sugerem que a aplicação das referidas dosagens foi capaz de reduzir a influência do estresse salino sobre as plantas deste agrupamento e aproxima-las do grupo controle. Resultados semelhantes foram encontrados por Mlinaric *et al.* (2020) em plantas de *Ficus carica* L. (var. Green matalon), onde indução de plantas ao resfriamento reduziu os valores das variáveis originais de ET_0/RC , RE_0/RC , PI_{ABS} e PI_{total} , causando um distanciamento entre o agrupamento das plantas tratadas e o agrupamento de plantas controle.

Segundo Varghese *et al.* (2019), condições de estresse ocasionadas por fatores abióticos como a salinidade geralmente promovem distúrbios no transporte de elétrons e podem ser detectados pela curva OJIP. Neste cenário, nossos resultados mostraram que a indução de estresse salino em plantas VCC 865 e AEC 0144 durante 60 dias foi suficiente para promover alterações na curva OJIP e no ΔV_{OP} , e consideráveis o suficiente para proporcionar a formação da banda-L (ΔV_{OK}) e da banda-K (ΔV_{OJ}). Todavia, também verificamos que a aplicação de baixas doses de selênio (1 e 5 μM) atenuaram os efeitos provocados pela exposição à salinidade sobre a Fl Chl *a*. Ao mesmo tempo, altas doses de selênio (25 μM) somadas ao estresse salino não obtiveram a atenuação desejada, principalmente, para o genótipo VCC 865.

A banda-L está associada ao nível de agrupamento dos complexos antenas do FSII (LHCII) no interior da membrana do tilacóide e a conectividade destes com os RC (STIRBET *et al.*, 2014; ZAGORCHEV *et al.*, 2020). Uma banda-L positiva reflete um menor agrupamento dos LHCII, ou seja, uma maior distância entre as antenas do FSII e os RC, tornando a redistribuição de energia menos eficiente. Ao mesmo tempo, uma banda-L negativa, reflete um

maior agrupamento dos LHCII e uma distribuição de energia mais eficiente entre estes e os RCs (TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 2013; KALAJI *et al.*, 2018). Diante disso, verificamos que o estresse salino foi capaz de alterar a banda-L em plantas de *Eucalyptus spp.* (VCC 865 e AEC 0144) promovendo uma redução no agrupamento do LHCII, bem como uma menor eficiência de distribuição energética até os RCs. Efeitos semelhantes foram relatados por Varghese *et al.* (2019), onde o estresse salino reduziu a absorção, captura e transporte de elétrons em toda fase O-J. Segundo Oukarroum *et al.* (2007), esse fenômeno pode estar relacionado à desorganização nas membranas do tilacóide.

Em nosso estudo a aplicação de selênio nas plantas sem estresse salino, promoveu uma banda-L levemente positiva em ambos os genótipos, VCC 865 (*E. urograndis*) e AEC 0144 (*E. urophylla*). Isso pode indicar que sob condições normais de crescimento, a aplicação de baixas doses de selênio sejam capazes de promover um maior agrupamento dos LHCII e otimizar a distribuição de energia para os RCs. Além disso, estes indícios podem explicar a redução dos valores negativos banda-L nas plantas expostas à salinidade, tratadas com baixas doses de selênio. Isso sugere que até certo ponto, baixas doses de selênio podem atenuar os efeitos da desorganização no agrupamento do LHCII e da distribuição de energia aos RCs em plantas sob estresse salino. Segundo Strasser, Tsimilli-Michael e Srivastava (2004), a melhora na conectividade resulta tanto em uma melhora de aproveitamento da energia de excitação quanto na maior estabilidade do sistema. Ademais, também verificamos que a dosagem de selênio capaz de atenuar os efeitos do estresse salino pode variar até dentro da mesma espécie, dependendo do genótipo utilizado.

A banda-K está associada ao lado doador do FSII e a estabilidade do complexo de evolução do oxigênio (CEO), especialmente do complexo de Mn (YUSUF *et al.*, 2010; STIRBET *et al.*, 2014). Todavia, sua interpretação pode ser complexa (STIRBET *et al.*, 2014). Isso porque uma banda-K positiva pode significar a inativação do CEO e/ou um aumento funcional do LHCII, ao passo que uma banda-K negativa pode significar uma aceleração do transporte de elétrons (do lado doador) e/ou um atraso no transporte de elétrons (do lado receptor) (YUSUF *et al.*, 2010; ZAGORCHEV *et al.*, 2021).

Apesar de a formação da banda-K estar mais relacionada ao estresse térmico (STIRBET *et al.*, 2014) outros estudos como o de Kalaji *et al.* (2018) têm relatado a ocorrência desta em plantas sob estresse salino. Nossos resultados apontaram a formação da banda-K em todos os tratamentos avaliados, entretanto, foi notório que a salinidade proporcionou um aumento da banda-K em relação as plantas tratadas apenas com selênio. Neste sentido, é provável que a salinidade tenha potencializado a formação da banda-K e a aplicação de selênio não tenha sido

eficiente em atenuar esse distúrbio. Com relação a formação da banda-K, segundo Dimitrova *et al.* (2020), quando a eficiência/probabilidade de que um elétron se move além de Q_A^- (ψE_0 ; Figura 17) é reduzida, pode-se concluir que a banda-K positiva é resultante, principalmente, de um CEO prejudicado. Dessa forma, podemos deduzir que a aplicação de selênio não apresentou efeitos benéficos para possibilitar uma maior estabilidade do CEO. Ademais, curiosamente, ambas as diferenças (positivas e negativas) foram observadas na banda-K das plantas sob estresse salino sem a aplicação de selênio do genótipo AEC 0144.

Por meio do teste-JIP, constatamos que a aplicação de 1 e 5 μM de Se em VCC 865 e 1, 5 e 25 μM de Se em AEC 0144 foram capazes de atenuar, ao menos parcialmente, os efeitos ocasionados pela salinidade aos parâmetros do teste-JIP (Area, ABS/RC, RE_0/RC , ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}). Estudos como o de Jiang *et al.* (2017) e Hasanuzzaman *et al.* (2020) têm mostrado que a aplicação de selênio em doses adequadas pode proporcionar efeitos benéficos às plantas como a regulação osmótica, aumento do teor de pigmentos, aumento da taxa fotossintética, estabilização da membrana e incremento de biomassa. Desta forma, nossos resultados corroboram com estudos já existentes e apontam que os parâmetros do teste-JIP também podem detectar a influência do selênio nas plantas por meio da fluorescência.

Também observamos que altas doses de selênio (25 μM) apresentaram efeitos distintos para cada genótipo. Esse comportamento reforça a ideia de que diferentes genótipos de uma mesma espécie podem responder de maneira distinta às adversidades ambientais (CUNHA *et al.*, 2021). Além disso, é possível que essa diferenciação de comportamento tenha ocorrido pois o híbrido VCC 865, gerado a partir do cruzamento de *E. grandis* com *E. urophylla*, pode apresentar um ajuste osmótico mais eficiente contra a salinidade quando comparado ao AEC 0144 (*E. urophylla*) (LACERDA, 2016).

A aplicação de 25 μM de selênio agravou os efeitos de exposição à salinidade nas plantas de VCC 865. Isso pode ter sido provocado em função da toxicidade atribuída ao excesso de ânions de selênio absorvidos e translocados às outras partes da planta que, após a metabolização para a forma orgânica, passam a competir com os compostos essenciais de enxofre pelas reações bioquímicas (BROWN; SHRIFT, 1982).

A variação do índice de desempenho para a conservação de energia de fótons absorvidos pelo FSII até a redução dos aceptores de elétrons finais do FSI (PI_{total}), também denominado de índice de desempenho total (GOLTSEV *et al.*, 2016) é o produto dos eventos de absorção de energia [$\gamma_{RC}/(1-\gamma_{RC})$], rendimento quântico de captura de energia de excitação [$\phi P_0/(1-\phi P_0)$], da probabilidade de que o éxciton preso mova um elétron para a CTE além da Q_A [$\psi E_0/(1-\psi E_0)$]

e a probabilidade de que o FSI reduza seus aceitadores finais [$\delta R_0/(1-\delta R_0)$] (YUSUF *et al.*, 2010). Também observamos que após a exposição à salinidade, ambos os genótipos, apresentaram alterações (totais ou parciais) nos parâmetros que compõe o PI_{total} . Assim, é possível obter um maior entendimento acerca dos parâmetros que mais sofrem influência da aplicação do selênio em plantas expostas à salinidade. Com base em nossos resultados, tanto VCC 865 quanto AEC 0144 apresentaram uma melhora no $\phi P_0/(1-\phi P_0)$, após o tratamento de plantas expostas à salinidade com baixas doses de selênio (1 e 5 μM). Esse parâmetro é conhecido por indicar a eficiência da reação fotoquímica primária e por ser o componente mais sensível da cadeia fotossintética (GOLTSEV *et al.*, 2016; TSIMILLI-MICHAEL, 2020). Por outro lado, o genótipo VCC 865 apresentou variações nos valores de $\delta R_0/(1-\delta R_0)$ quando exposto a diferentes concentrações de salinidade e dosagens de selênio. Isso sugere que tanto a salinidade quanto o selênio podem estar relacionados aos eventos que envolvem o FSI deste genótipo. Neste sentido, também podemos supor que o FSI das plantas de VCC 865 é mais propenso à fotoinibição induzida pela salinidade que o FSI das plantas de AEC 0144.

5. CONCLUSÃO

- A aplicação de baixas doses de selênio foi capaz de reduzir banda-L nas plantas de VCC 865 (*E. urograndis*) e AEC 0144 (*E. urophylla*) expostas à salinidade. Esses resultados apontam que o selênio pode induzir um maior agrupamento dos LHCII e melhorar a conectividade com os RCs;
- As dosagens de selênio utilizadas nesse estudo não foram capazes de atenuar os efeitos provocados pela exposição à salinidade sobre a banda-K, sugerindo a incapacidade deste em atenuar os distúrbios ocorridos no CEO;
- A aplicação de selênio foi eficiente em atenuar os efeitos da exposição à salinidade nos seguintes parâmetros do teste-JIP: Area, ABS/RC, RE₀/RC, ϕP_0 , ψE_0 , ϕE_0 , δR_0 , ϕR_0 , PI_{ABS} e PI_{total}.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWN, T. A.; SHRIFT, A. Selenium: Toxicity and Tolerance in Higher Plants. **Biol. Rev.**, v. 57, p. 59-84, 1982.
- CLARK, R. B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 458-460, 1975.
- CUNHA, T. Q. G. DA; SANTOS, A. C.; NOVAES, E.; HANSTED, A. L. S.; YAMAJI, F. M.; SETTE JR, C. R. Eucalyptus expansion in Brazil: Energy yield in new forest frontiers. **Biomass and Bioenergy**, v. 144, p. 105900, 2021.
- DOĞRU, A. Effects of heat stress on photosystem II activity and antioxidant enzymes in two maize cultivars. **Planta**, v. 253, n. 4, p. 85, 2021.
- DIMITROVA, S.; PAUNOV, M.; PAVLOVA, B.; DANKOV, K.; KOUZMANOVA, M.; VELIKOVA, V.; TSONEV, T.; KALAJI, H. M.; GOLTSEV, V. Special issue in honour of Prof. Reto J. Strasser—Photosynthetic efficiency of two *Platanus orientalis* L. ecotypes exposed to moderately high temperature-JIP-test analysis. **Photosynthetica**, v. 58, n. SPECIAL ISSUE, p. 657-670, 2020.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **FAO land and plant nutrition management service**. (Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome). Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/>>. Acesso em: 27 abr. 2018.
- GOLTSEV, V. N.; KALAJI, H. M.; PAUNOV, M.; BAĞA, W.; HORACZEK, T.; MOJSKI, J.; KOCIEL, H.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 63, n. 6, p. 869–893, 2016.
- GUPTA, M.; GUPTA, S. An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 2017.
- HASANUZZAMAN, M.; BHUYAN, M. H. M. B.; RAZA, A.; HAWRYLAK-NOWAK, B.; MATRASZEK-GAWRON, R.; MAHMUD, J. AL; NAHAR, K.; FUJITA, M. Selenium in plants: Boon or bane? **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, p. 104170, 2020.
- HAWRYLAK-NOWAK, B. Beneficial effects of exogenous selenium in cucumber seedlings subjected to salt stress. **Biological trace element research**, v. 132, p. 259-269, 2009.
- HE, Y.; ZHOU, L.; HU, Y.; FANG., C.; YU, Y.; YANG, J.; ZHU, B.; RUAN, Y. L.; ZHU, Z. Overexpression of sly-miR398b increased salt sensitivity likely via regulating antioxidant system and photosynthesis in tomato. **Environmental and Experimental Botany**, v. 181, p. 104273, jan., 2021.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, H.; QUITERIO-GUTIÉRREZ, T.; CADENAS-PLIEGO, G.; ORTEGA-ORTIZ, H.; HERNÁNDEZ-FUENTES, A. D.; CABRERA DE LA FUENTE, M.; VALDÉS-REYNA, J.; JUÁREZ-MALDONADO, A. Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. **Plants**, v. 8, n. 10, 355, 2019.

HUA, L. S.; CHEN, L. W.; ANTOV, P.; KRISTAK, L.; Md TAHIR, P. Engineering Wood Products from *Eucalyptus* spp. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2022, 2022.

HUIHUI, Z.; XIN, L.; ZISONG, X.; YUE, W.; ZHIYUAN, T.; MEIJUN, A.; YUEHUI, Z.; WENXU, Z.; NAN, X.; GUANGYU, S. Toxic effects of heavy metals Pb and Cd on mulberry (*Morus alba* L.) seedling leaves: Photosynthetic function and reactive oxygen species (ROS) metabolism responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 195, p. 110469, 2020.

JIANG, C.; ZU, C.; LU, D.; ZHENG, Q.; SHEN, J.; WANG, H.; LI, D. Effect of exogenous selenium supply on photosynthesis, Na⁺ accumulation and antioxidative capacity of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 42039. 2017.

KALAJI, H. M.; JAJOO, A.; OUKARROUM, A.; BRESTIC, M.; ZIVCAK, M.; SAMBORSKA, I. A.; CETNER, M. D.; LUKASIK, I.; GOLTSEV, V.; LADLE, R. J. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. **Acta physiologiae plantarum**, v. 38, n. 4, p. 1-11, 2016.

KALAJI, H. M.; RAČKOVÁ, L.; PAGANOVÁ, V.; SWOCZYNA, T.; RUSINOWSKI, S.; SITKO, K. Can chlorophyll-a fluorescence parameters be used as bio-indicators to distinguish between drought and salinity stress in *Tilia cordata* Mill? **Environmental and Experimental Botany**, v. 152, p. 149–157, 2018.

LACERDA, J. J. **Estresse Salino E Seus Efeitos no Crescimento Inicial de Clones de *Eucalyptus* spp.** 2016. 123 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista. 2016.

LINIĆ, I.; MLINARIĆ, S.; BRKLJAČIĆ, L.; PAVLOVIĆ, I.; SMOLKO, A.; SALOPEK-SONDI, B. Ferulic Acid and Salicylic Acid Foliar Treatments Reduce Short-Term Salt Stress in Chinese Cabbage by Increasing Phenolic Compounds Accumulation and Photosynthetic Performance. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2346, 2021.

MLINARIĆ, S.; CESAR, V.; LEPEDUŠ, H. Antioxidative response and photosynthetic regulatory mechanisms in common fig leaves after short-term chilling stress. **Annals of Applied Biology**, v. 178, n. 2, p. 315–327, 2021.

OLIWA, J.; SKOCZOWSKI, A. Different response of photosynthetic apparatus to high–light stress in sporotrophophyll and nest leaves of platycerium bifurcatum. **Photosynthetica**, v. 57, n.1, p. 147–159, 2019.

OUKARROUM, A.; EL MADIDI, S.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. Probing the responses of barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by chlorophyll a fluorescence OLKJIP under drought stress and re-watering. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 3, p. 438-446, 2007.

PAUNOV, M.; KOLEVA, L.; VASSILEV, A.; VANGRONSVELD, J.; GOLTSEV, V. Effects of Different Metals on Photosynthesis: Cadmium and Zinc Affect Chlorophyll Fluorescence in Durum Wheat. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 787, 2018.

SILVA, V. M.; BOLETA, E. H. M.; LANZA, M. G. D. B.; LAVRES, J.; MARTINS, J. T.; SANTOS, E. F., DOS SANTOS, F. L. M.; PUTTI, F. F.; JUNIOR, E. F.; WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; CARVALHO, H. W. P. DE; REIS, A. R. DOS. Physiological,

biochemical, and ultrastructural characterization of selenium toxicity in cowpea plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 150, p. 172–182, 2018.

STRASSER, B. J.; STRASSER, R. J. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP-test. **Photosynthesis: From Light to Biosphere**, p. 977–980, 1995.

STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: **Chlorophyll a fluorescence**. Springer, Dordrecht, p. 321–362, 2004.

STANTURF, J. A.; VANCE, E. D.; FOX, T. R.; KIRST, M. *Eucalyptus* beyond Its Native Range: Environmental Issues in Exotic Bioenergy Plantations. **International Journal of Forestry Research**, v. 2013, p. 1–5, 2013.

STIRBET, A.; RIZNICHENKO, G. YU.; RUBIN, A. B.; GOVINDJEE. Modeling chlorophyll a fluorescence transient: relation to photosynthesis. **Biochemistry (Moscow)**, v. 79, n. 4, p. 291–323, 2014.

TSIMILLI-MICHAEL, M. Revisiting JIP-test: An educative review on concepts, assumptions, approximations, definitions and terminology. **Photosynthetica**, v. 58, p. 275–292, 2020.

TSIMILLI-MICHAEL, M., STRASSER, R. J. The energy flux theory 35 years later: formulations and applications. **Photosynthesis Research**, n. 117, n. 1–3, p. 289–320, 2013.

VARGHESE, N.; ALYAMMAHI, O.; NASREDDINE, S.; ALHASSANI, A.; GURURANI, M. A. Melatonin Positively Influences the Photosynthetic Machinery and Antioxidant System of *Avena sativa* during Salinity Stress. **Plants**, v. 8, n. 12, p. 610, 2019.

YUSUF, M. A.; KUMAR, D.; RAJWANSHI, R.; STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; GOVINDJEE; SARIN, N. B. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1797, n. 8, p. 1428–1438, 2010.

ZAGORCHEV, L.; ATANASOVA, A.; ALBANOVA, I.; TRAIANOVA, A.; MLADENOV, P.; KOUZMANOVA, M.; GOLTSEV, V.; KALAJI, H. M.; TEOFANOVA, D. Functional Characterization of the Photosynthetic Machinery in Smicronix Galls on the Parasitic Plant *Cuscuta campestris* by JIP-Test. **Cells**, v. 10, n. 6, p. 1399, 2021.

ZAGORCHEV, L.; TRAIANOVA, A.; TEOFANOVA, D.; LI, J.; KOUZMANOVA, M.; GOLTSEV, V. Influence of *Cuscuta campestris* Yunck. on the photosynthetic activity of *Ipomoea tricolor* Cav. – in vivo chlorophyll a fluorescence assessment. **Photosynthetica**, v. 58, n. Special Issue, p. 422–432, 2020.

ZENG, J.; CHEN, A.; LI, D.; YI, B.; WU, W. Effects of Salt Stress on the Growth, Physiological Responses, and Glycoside Contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 24, p. 5720–5726, 2013.

ZAHEDI, S. M.; HOSSEINI, M. S.; MEYBODI, N. D. H.; DA SILVA, J. A. T. Foliar application of selenium and nano-selenium affects pomegranate (*Punica granatum* cv. Malase Saveh) fruit yield and quality. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 350–358, 2019.

APÊNDICES

CAPITULO 1 – OS EFEITOS DA APLICAÇÃO DE SELÊNIO EXÓGENO SOBRE A FISIOLOGIA DE MUDAS DE EUCALIPTO CULTIVADAS EM CONDIÇÕES DE SALINIDADE

PLANTAS DE DOIS GENÓTIPOS DE EUCALIPTO (VCC 865 E AEC 0144) APÓS 60 DIAS DE TRATAMENTO

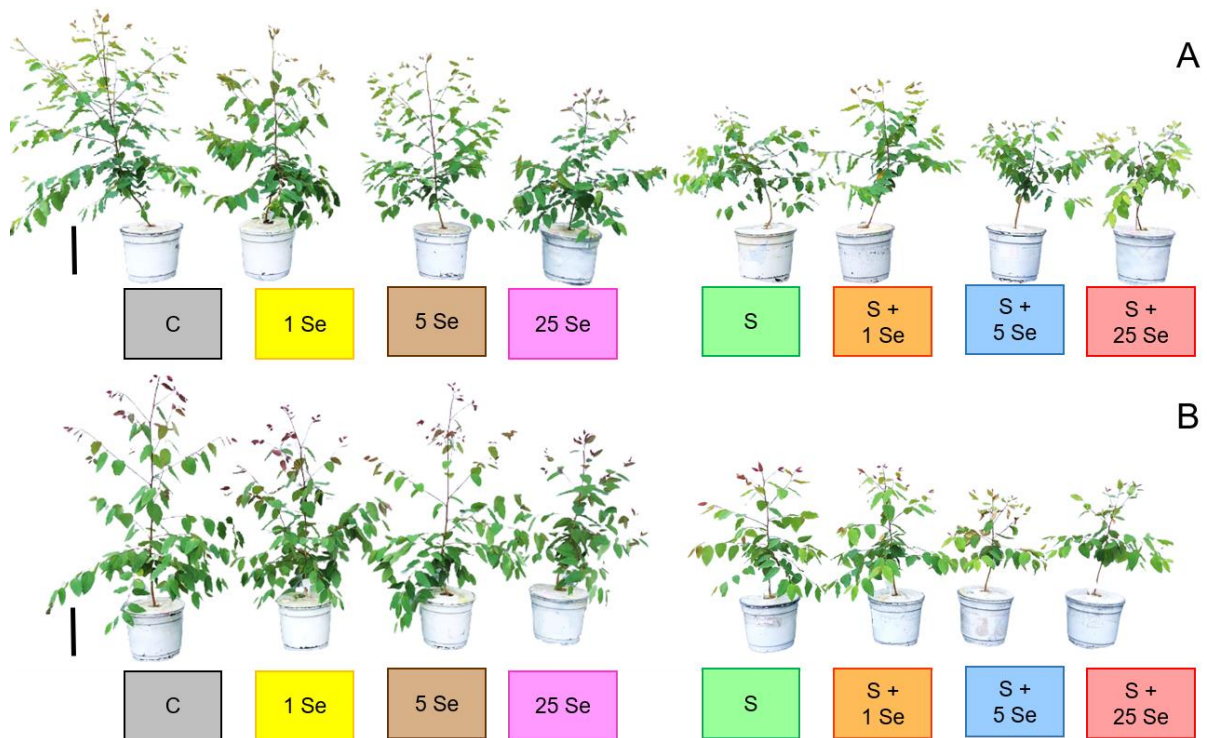


Figura 19: Plantas de dois genótipos de eucalipto após 60 dias de tratamento. Os tratamentos incluem diferentes concentrações de selênio (Se; 0, 1, 5 e 25 μM) e o cultivo ou não em condições salinas (NaCl; 0 e 100 mM). A: VCC 865 (*E. urograndis*); B = AEC 0144 (*E. urophylla*). Barra de escala = 25 cm.

INJÚRIAS FOLIARES PROMOVIDAS PELO CULTIVO EM CONDIÇÕES SALINAS DURANTE 60 DIAS



Figura 20: Injúrias promovidas em folhas de *Eucalyptus* pelo cultivo em condições salinas por 60 dias.

ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Tabela 8: Matriz de autovalores gerados na Análise de Componentes Principais (PCA).

Parâmetro	VCC 865		AEC 0144	
	Componente Principal (PC)			
	PC 1	PC 2	PC 1	PC 2
Altura (cm)	0,824	0,007	0,865	0,002
Diâmetro do colo (mm)	0,758	0,005	0,843	0,013
MS radicular (g)	0,750	0,006	0,748	0,024
MS caulinar (g)	0,927	0,001	0,836	0,002
MS foliar (g)	0,893	0,009	0,864	0,005
MS total (g)	0,942	0,000	0,896	0,010
F _v /F _M	0,574	0,002	0,618	0,001
P _N (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	0,844	0,017	0,816	0,031
T _R (mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0,854	0,000	0,611	0,037
g _s (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	0,897	0,000	0,687	0,070
C _i (μmol CO ₂ mol ⁻¹)	0,084	0,047	0,154	0,000
Chl <i>a</i> (mg g ⁻¹ MS)	0,003	0,946	0,295	0,662
Chl <i>b</i> (mg g ⁻¹ MS)	0,004	0,778	0,092	0,770
Car (mg g ⁻¹ MS)	0,001	0,682	0,135	0,711
Autovalor	8,357	2,500	8,459	2,338
Percentual de variação	59,69%	17,90%	60,40%	16,70%
Percentual de variação cumulativo	77,59%		77,10%	

Onde: MS = massa seca; F_v/F_M = rendimento quântico máximo para fotoquímica primária; P_N = taxa de fotossíntese líquida; T_R = taxa de transpiração; g_s = condutância estomática; C_i = concentração interna de CO₂; Chl *a* = clorofila *a*; Chl *b* = clorofila *b*; Car = carotenoides totais.

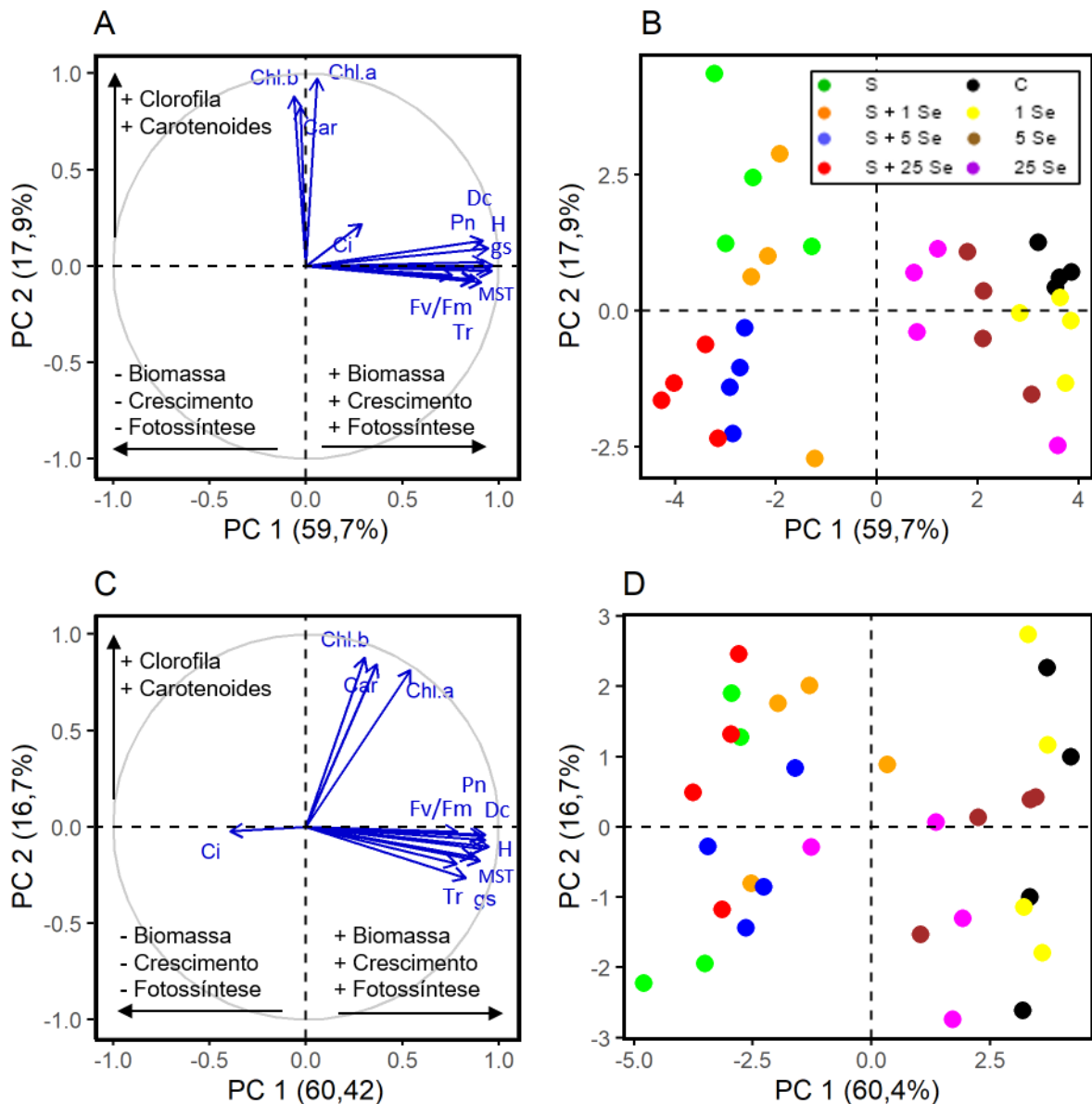


Figura 21: Análise de componentes principais (PCA) de 14 variáveis fisiológicas sobre os efeitos da aplicação de selênio (Se) em plantas de eucalipto estressadas ou estressadas por sal (S). A e B: VCC 865; C e D: AEC 0144. Onde: Fv/F_M = rendimento quântico máximo para fotoquímica primária; P_N = taxa de fotossíntese líquida; T_R = taxa de transpiração; g_s = condutância estomática; C_i = concentração interna de CO₂; H = altura; Dc = diâmetro do colo; MSR = massa seca da raiz; MSC = massa seca do caule; MSF = massa seca foliar; MST = massa seca total; Chl a = clorofila a; Chl b = clorofila b; Car = carotenoides totais.

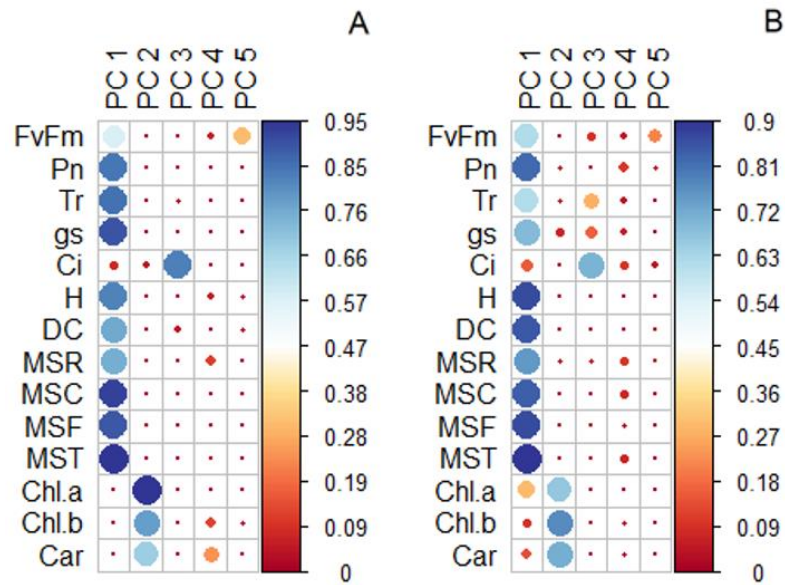


Figura 22: Correlação entre as 14 variáveis fisiológicas avaliadas e as componentes principais (PC). A: VCC 865; B: AEC 0144.

Onde: F_v/F_m = eficiência quântica máxima do FSII; P_N = taxa de fotossíntese líquida; T_R = taxa de transpiração; g_s = condutância estomática; C_i = concentração interna de CO_2 ; H = altura; D_c = diâmetro do colo; MSR = massa seca da raiz; MSC = massa seca do caule; MSF = massa seca foliar; MST = massa seca total; $Chl\ a$ = clorofila a ; $Chl\ b$ = clorofila b ; Car = carotenoides totais.