

**UFRRJ  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E  
FLORESTAIS**

**DISSERTAÇÃO**

**Identificação de Madeiras de clones de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e do híbrido *Eucalyptus urograndis* por RMN <sup>13</sup>C**

**Natália Dias de Souza**

**2008**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E  
FLORESTAIS**

**IDENTIFICAÇÃO DE MADEIRAS DE CLONES DE *Eucalyptus grandis*,  
*Eucalyptus urophylla* E DO HÍBRIDO *Eucalyptus urograndis* POR RMN  
<sup>13</sup>C**

**NATÁLIA DIAS DE SOUZA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Heber dos Santos Abreu**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, Área de Concentração Tecnologia e Utilização de Produtos Florestais.

Seropédica, RJ  
Março de 2008

634.9742

S729i

T

Souza, Natália Dias de, 1981-  
Identificação de madeiras de clones de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e do híbrido *Eucalyptus urograndis* por RMN 13C / Natália Dias de Souza- 2008.  
198f. : il.

Orientador: Heber dos Santos Abreu.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Florestas.  
Bibliografia: f. 45-53.

1. Eucalipto - Teses. 2. Eucalipto - Identificação - Teses. 3. Madeira - Anatomia - Teses. 4. Madeira - Pesquisa - Teses. I. Abreu, Heber dos Santos, 1953- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Florestas. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE FLORESTAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS FLORESTAIS**

**NATÁLIA DIAS DE SOUZA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Florestais, Área de Concentração em Tecnologia e Utilização de Produtos Florestais.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 07/03/2008

---

Heber dos Santos Abreu. Prof. Dr. UFRRJ  
(Orientador)

---

João Vicente de Figueiredo Latorraca. Prof. Dr. UFRRJ

---

Graciela Ines Bolzon de Muniz. Prof. Dr. UFPR

## AGRADECIMENTOS

A DEUS por ter me dado força e saúde.

Aos meus pais, pela oportunidade que me deram de estudar, as minhas irmãs, que sempre estiveram ao meu lado.

Ao meu orientador, Heber dos Santos Abreu por toda sua paciência, seus incentivos e por toda a sua sabedoria.

Aos meus amigos e professores da UFRRJ.

Aos colegas do Laboratório de Química da Madeira: José Carlos e Daniel Chalita.

Aos estagiários do programa Jovem Talento da FAPERJ: Wagner e Diogo.

Ao Jorge pela ajuda ao desenvolver o programa.

Ao prof<sup>o</sup> Maeda por todas as análises e idéias.

A prof. Inês da UNB pela cooperação e pelos registros dos espectros.

A ARACRUZ FLORESTAL por todo material cedido.

Ao centro de ressonância da UNB pela contribuição para realização dos espectros.

A FAPERJ pelos recursos para realização do projeto.

A CAPES pela bolsa de mestrado.

Em especial agradeço ao meu noivo, LEONARDO, que demonstrou ser o meu melhor amigo.

**Obrigada.**

## RESUMO

SOUZA, Natália Dias. **Identificação de Madeiras de clones de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e do híbrido *Eucalyptus urograndis* por RMN <sup>13</sup>C.** 2008. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais e Florestais). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

O gênero *Eucalyptus* é representado por árvores com alta taxa de crescimento, plasticidade, forma retilínea de crescimento do fuste, desrama natural e madeira com variações nas propriedades tecnológicas, adaptadas às mais variadas condições de uso. Em função das pressões ecológicas e da distância do mercado consumidor de madeiras nativas, o eucalipto apresenta-se como uma das melhores opções para suprir este mercado no Brasil. O eucalipto pode apresentar características anatômicas e morfológicas muito parecidas, principalmente em decorrência de cruzamento natural, tornando-se extremamente difícil a sua identificação. As técnicas conhecidas da sistemática botânica e da anatomia da madeira muitas vezes exigem ferramentas indisponíveis. A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) sem dúvida pode vir a ser uma das mais promissoras técnicas de identificação, haja vista os estudos de estruturas e da dinâmica de moléculas orgânicas em solução. A RMN permite elucidar as estruturas moleculares de várias substâncias incluindo as que ocorrem na madeira. Esta pesquisa teve o objetivo de constituir um método de identificar as madeiras de espécies do gênero *Eucalyptus* através da técnica de RMN <sup>13</sup>C utilizando as variações espectrais dos extratos ciclohexânicos sob o ponto de vista fisiológico, ecológico e genético. Com os resultados obtidos, pode-se concluir que os espectros dos extratos ciclohexânicos do cerne foram os mais representativos para o estudo de identificação de madeiras, devido ao número de sinais existentes em relação às regiões dos espectros: alifática (0 a 55 ppm), olefínicas e aromáticas (110 a 155 ppm) e carbonílicas e acílicas (155 a 220 ppm). Com esses resultados foi possível identificar o perfil espectral comum para as espécies *E. grandis* e *E. urophylla* e para o híbrido *E. urograndis* de cada região anatômica (alburno, zona de transição e cerne).

**Palavras-chave:** Identificação de madeiras, extratos, perfil espectral, RMN <sup>13</sup>C

## ABSTRACT

SOUZA, Natália Dias. **Wood Identification of clones of *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* and of the hybrid *Eucalyptus urograndis* by  $^{13}\text{C}$  NMR**. 2008. 97 f. Dissertation (Master's degree in Environmental and Forest Sciences). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The *Eucalyptus* genus is represented for trees that have high growth rate, plasticity, straight way of stem growth, natural pruning and wood with the technological properties suitable for a diverse use. In function of ecological society pressure and the larger distance between the forest and the consumer center, the native woods have been substituted by eucalyptus wood, which presents enough condition and great options to supply the necessity and the exigent wood market in Brazil. In this context, many researches on *Eucalyptus* have been carried on several point of view. One of difficulty for usury of *Eucalyptus* wood is its identification. For solve this problem, it was developed an alternative way for *Eucalyptus* wood identification, without to take hand the anatomical and morphological tools. Thus new methods of identification faster and cheaper must be developed. On this way, the application of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) showed to be one promise technique for wood identification. This research has turned possible with NMR  $^{13}\text{C}$  spectrometry method. A spectral variation among cyclohexane extracts permitted to observe the physiological, ecological and genetical behavior on the *Eucalyptus* wood. Dada of  $^{13}\text{C}$  NMR has shown that the cyclohexane extracts spectra of heartwood were the most representative for the wood identification, than others solvent. With these data was possible to establish a common spectral profile for *E. grandis*, *E. urophylla* and *E. urograndis* from each anatomical wood region (sapwood, transition zone and heartwood).

**Key words:** Wood identification, extracts, spectral profile,  $^{13}\text{C}$  NMR

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Material de clones do gênero *Eucalyptus*, coletado na ARACRUZ-ES.-----15
- Tabela 2.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno para as madeiras dos clones da espécie *E. grandis*.-----26
- Tabela 3.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras dos clones da espécie *E. grandis*.-----27
- Tabela 4.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones da espécie *E. grandis*.-----28
- Tabela 5.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno para as madeiras dos clones da espécie *E. urophylla*.-----30
- Tabela 6.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras dos clones da espécie *E. urophylla*.-----31
- Tabela 7.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones da espécie *E. urophylla*.-----32
- Tabela 8.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno para as madeiras dos clones do híbrido *E. urograndis*.-----33
- Tabela 9.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras dos clones do híbrido *E. urograndis*.-----35
- Tabela 10.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos espectros dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones do híbrido *E. urograndis*.-----37
- Tabela 11.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones de *E. grandis*, *E. urophylla* e do híbrido *E. urograndis*.-----39



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama do movimento de precessão do spin em torno do campo magnético $B_0$ .--	04
-----	
<b>Figura 2.</b> Técnica experimental APT-----	05
-----	
<b>Figura 3.</b> Técnica experimental APT melhorada-----	05
<b>Figura 4.</b> <i>E. grandis</i> – (a) seção transversal (10x), (b) seção transversal (50x), (c) seção longitudinal tangencial (50x), (d) seção longitudinal radial (50x).-----	08
<b>Figura 5.</b> <i>E. urophylla</i> – (a) seção longitudinal tangencial (100x), (b) seção longitudinal radial (100x), (c) seção transversal (40x).-----	09
<b>Figura 6.</b> <i>E. urograndis</i> – (a) seção transversal (10x), (b) seção transversal (50x), (c) seção longitudinal tangencial (50x), (d) seção longitudinal radial (50x).-----	10
<b>Figura 7.</b> Aparelhos utilizados na extração: Soxhlet e Rotavapor-----	16
<b>Figura 8.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do <b>alburno</b> do lenho de <i>E. grandis</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	17
<b>Figura 9.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região de <b>zona de transição</b> do lenho de <i>E. grandis</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	18
<b>Figura 10.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do <b>cerne</b> do lenho de <i>E. grandis</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	18
<b>Figura 11.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do <b>alburno</b> do lenho de <i>E. urophylla</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	20
<b>Figura 12.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região de <b>zona de transição</b> do lenho de <i>E. urophylla</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	21
<b>Figura 13.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do <b>cerne</b> do lenho de <i>E. urophylla</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	21
<b>Figura 14.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do <b>alburno</b> do lenho de <i>E. urograndis</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	22
<b>Figura 15.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região de <b>zona de transição</b> do lenho de <i>E. urograndis</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	22
<b>Figura 16.</b> Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do <b>cerne</b> do lenho de <i>E. urograndis</i> dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.-----	22
<b>Figura 17.</b> Foto da madeira com bolsa de Kino.-----	24
<b>Figura 18.</b> Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos de <i>Eucalyptus</i> , <i>E. grandis</i> , <i>E. urophylla</i> e do híbrido <i>E. urograndis</i> . -----	40
<b>Figura 19.</b> Tela principal do SisMIME (Sistema Molecular de Identificação de Madeiras de <i>Eucalyptus</i> )-----	41
<b>Figura 23.</b> Tela para cadastro dos espectros.-----	41

## LISTA DE ABREVIACOES

RMN	Ressonância Magnética Nuclear;
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13;
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer;
APT	Attached Proton Test;
HMQC	Heteronuclear MultipleQuantum Coherence;
HMBC	Heteronuclear MultipleBond Coherence;
CDCl <sub>3</sub>	Cloroforme Deuterado;
CD <sub>3</sub> OD	Metanol Deuterado;
ppm	Partes por milhão;

## LISTA DE SÍMBOLOS

ha	hectare
$\mu\text{m}$	micrometro
g	grama
m	metro
mm	milímetro
mHz	megahertz

## SUMÁRIO

<b>1- INTRODUÇÃO</b>	01
<b>2- OBJETIVOS</b>	06
2-1. Objetivo específico	06
2-2. Objetivos gerais	06
<b>3- REVISÃO DE LITERATURA</b>	07
3-1. Estrutura anatômica das madeiras de <i>Eucalyptus grandis</i> , <i>Eucalyptus urophylla</i> e do híbrido <i>Eucalyptus urograndis</i>	07
3-1-1. Descrição Anatômica de <i>E. grandis</i>	07
3-1-2. Descrição Anatômica de <i>E. urophylla</i>	08
3-1-3. Descrição Anatômica do híbrido <i>E. urograndis</i>	09
3-2. <i>Eucalyptus grandis</i> Hill ex Maiden	10
3-3. <i>Eucalyptus urophylla</i> S. T. Blake	11
3-4. O híbrido <i>Eucalyptus urograndis</i>	12
3-5. RMN <sup>13</sup> C	13
<b>4- MATERIAL E MÉTODOS</b>	15
4-1. Coleta do material	15
4-2. Preparação das amostras	15
4-3. Obtenção dos Extratos	16
4-4. RMN <sup>13</sup> C	16
<b>5- RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	17
5-1. Teores de extrativos	17
5-1-1. <i>E. grandis</i>	17
5-1-2. <i>E. urophylla</i>	19
5-1-3. <i>E. urograndis</i>	21
5-1-4. Teores de Extrativos: <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i> x <i>E. urograndis</i>	23
5-2. RMN <sup>13</sup> C	24
5-2-1. <i>E. grandis</i>	25
5-2-2. <i>E. urophylla</i>	29
5-2-3. <i>E. urograndis</i>	33
5-4. RMN <sup>13</sup> C de <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i> x <i>E. urograndis</i>	38
<b>6- CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	42
<b>7- CONCLUSÕES GERAIS</b>	43
<b>8- SUGESTÕES</b>	44
<b>9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	45
<b>ANEXOS</b>	54

## 1- INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* pertence a família Myrtaceae, compreendendo 70 gêneros e 3000 espécies entre arbustos e árvores, (RIZZINI, 1981).

Segundo OLIVEIRA *et al.* (1999), o gênero *Eucalyptus* é representado por árvores com alta taxa de crescimento, plasticidade, forma retilínea do fuste, desrama natural e madeira com variações nas propriedades tecnológicas, adaptadas às mais variadas condições de uso.

No Brasil as primeiras árvores desse gênero teriam sido plantadas em 1825, no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, com a finalidade de ornamentação ou para servir de quebra-ventos, pelo seu extraordinário desenvolvimento (PEREIRA *et al.*, 2000).

Durante a fase dos incentivos fiscais ao reflorestamento, haviam sido plantados 470.000 hectares de eucalipto em todo o Brasil, sendo 80% dos quais situados no estado de São Paulo. Em 1987 esses incentivos foram interrompidos, porém a tecnologia desenvolvida durante esse período encontra-se fortalecida pelas indústrias florestais até hoje. Algumas espécies deste gênero são muito utilizadas em programas de reflorestamento principalmente no Brasil. Segundo RECORD & HESS (1949), a madeira de eucalipto é na maioria das vezes dura, densa, resistente, com textura fina e baixa estabilidade dimensional.

Com o aumento da conscientização em relação ao uso de recursos florestais renováveis e a dificuldade em relação ao suprimento do setor moveleiro, novas alternativas madeireiras estão sendo analisadas para atender a demanda do mercado (COSTA, 1996). Nas últimas décadas, observou-se um significativo aumento nas informações tecnológicas básicas sobre as propriedades da madeira do gênero *Eucalyptus*, intensificando o seu emprego. ACOSTA (1998) afirma que países como Argentina, Uruguai, Chile e Paraguai também estão utilizando esta madeira nas indústrias de segunda transformação, como o caso de revestimentos, molduras, pisos, vigas laminadas, painéis colados lateralmente e principalmente móveis.

As observações iniciais sobre as características das madeiras de eucalipto foram conduzidas por DREW (1914) na Austrália, analisando os aspectos externos e algumas propriedades físicas da madeira de espécies de Nova Gales do Sul. No Brasil, destaca-se o trabalho de PEREIRA (1933) descrevendo a anatomia da madeira de 11 espécies de eucalipto.

A caracterização da estrutura anatômica da madeira de eucalipto é importante, considerando as variações existentes entre e dentro de espécies. A madeira de eucalipto apresenta uma estrutura heterogênea resultante das variações de seus elementos anatômicos, tornando-se importante determinar os padrões de variações existentes, visando, principalmente, definir sua utilização mais adequada (TOMAZELLO FILHO, 1985 c).

Vários pesquisadores estudaram as diferenças existentes dentro das espécies do gênero *Eucalyptus*, como exemplo: TOMAZELLO FILHO (1985 b), que ao estudar a variação radial da densidade básica e a estrutura anatômica do *E. gummifera*, *E. microcorys* e *E. pilularis*, encontrou diferenças nos valores de densidade básica, sendo maior na direção medula casca para o *E. microcorys* e *E. pilularis*, enquanto que para *E. gummifera* os valores mantiveram-se praticamente constantes no sentido radial. Já em relação à estrutura anatômica, de um modo geral, as características analisadas (tipos e distribuição de poros) mantiveram-se constantes para as três espécies estudadas. TOMAZELLO FILHO (1985 a), estudando a estrutura anatômica da madeira de oito espécies do gênero *Eucalyptus*: *E. globulus*, *E. gummifera*, *E. grandis*, *E. microcorys*, *E. pellita*, *E. pilularis*, *E. saligna* (Austrália e Mairinque - SP) e *E. triantha*, encontrou através da análise microscópica, diferenças na estrutura anatômica das madeiras, possibilitando a caracterização das diferentes espécies. DADSWELL (1934, 1972) observou para *E. grandis*, alinhamento oblíquo dos vasos variando de comum até raro e uma

grande porcentagem de raios multisseriados, segundo ANGYALOSSY-ALFONSO, (1983), para essa espécie, ocorre uma predominância de raios unisseriados. FREITAS (1965), TUSET & DURAN (1970) e DADSWELL (1972), observaram para *E. globulus* vasos em cadeia ao contrário de PEREIRA (1933), COZZO & RODRIQUEZ (1959) e PARRAGA (1981) que afirmaram ocorrer em distribuição difusa. A presença de vasos em cadeias oblíquas e de raios uni e bisseriados verificados nas amostras de *E. microcorys* por WELCH (1924) e DADSWELL (1934) não foram detectados por (OLIVEIRA & FREITAS, 1970). Contudo nenhum método anatômico tem sido eficaz na identificação em nível de espécie.

As madeiras apresentam zonas bem distintas no seu lenho, identificadas como: alburno, zona de transição e cerne. Na literatura várias definições são encontradas para essas regiões.

Segundo HILLIS (1987) em árvores vivas, o alburno é formado quando os elementos de fibra morrem após seu desenvolvimento ter sido completado, e uma certa quantidade de restos de citoplasma é deixada na parede do lume. Por outro lado, muitas células do raio e do parênquima longitudinal permanecem ativas por um considerável tempo no exterior (alburno), que tem sido definido como “a porção de madeira que, em árvores vivas, contém células vivas e materiais de reserva (exemplo: amido)” (ANON, 1957).

O corte transversal de caules de muitas árvores revela uma zona branca entre o alburno e o cerne chamada de zona de transição. Normalmente esta zona tem menos que 1cm de espessura e a largura pode aumentar com a altura da árvore e com estação do ano. De acordo com DASWELL (1972) a zona de transição tem cor pálida, sendo facilmente distinguível do alburno e apresenta um conteúdo líquido às vezes menor do que do cerne. Em algumas espécies, especialmente de madeira macia e madeira dura de porosidade difusa, uma zona de transição entre o alburno e o cerne está presente (CRAIB, 1923). De acordo com HILLIS (1987), as principais características da zona de transição são: baixa permeabilidade; cor pálida ou branca; falta de amido, reduzido conteúdo de líquido e com largura entre 1-3 anéis de crescimento. Existem evidências que substâncias encontradas no cerne são sintetizadas na zona de transição (KUMAR & DATTA, 1989; NOBUCHI *et al.*, 1987a, 1987b; MAGEL *et al.*, 1994; HILLINGER *et al.*, 1996a, 1996b; MAGEL & HÜBNER, 1997).

Muitas árvores possuem na madeira uma zona com coloração escura na parte central chamada cerne. O cerne é distinguido das outras zonas pelas seguintes características: maior conteúdo de extrativos, baixa quantidade de água e células parenquimáticas mortas (YANG *et al.*, 2004). A presença do cerne é um dos principais fatores que determinam a qualidade da madeira. Durante a transição do alburno para cerne, as células do parênquima do alburno sofrem mudanças metabólicas que resultam na formação do cerne e no aumento da síntese de metabólitos secundários, como: taninos condensados, terpenos, flavonóides, lignanas, lipídeos e estilbenos (HILLIS, 1987; MAGEL *et al.*, 1991, 1994; HILLINGER *et al.*, 1996a, 1996b; BURTIN *et al.*, 1998). A proporção e a existência do cerne em árvores maduras variam com a família, gênero e espécie. Em alguns gêneros (*Eucalyptus*) e em algumas espécies, a idade de transformação do alburno para o cerne é notavelmente constante e possivelmente é determinada geneticamente (DASWELL, 1972). KRAMER & KOSLOWSKI (1979), JANKOWSKY (1979), ZOBEL & BUJTENEN (1989), GONÇALEZ (1993) e CHAFE (1994) afirmaram que, durante a formação do cerne, ampla variedade de substâncias especiais, incluindo taninos, corantes, óleos, gomas, resinas e sais de ácidos orgânicos, se acumulam nos lumes das células e nas paredes celulares, resultando, às vezes, na coloração mais escura da madeira, além de aumento da massa específica e da durabilidade natural.

Além disso, o eucalipto, pode apresentar características anatômicas e morfológicas muito parecidas, em decorrência de cruzamento natural, tornando-se extremamente difícil a sua identificação, pois quanto mais espécies são cultivadas, mais hibridação ocorre entre as

espécies, resultando em híbridos de parentesco indeterminado (GONZÁLEZ, 2002). Outro fator mais recente relacionado ao gênero *Eucalyptus* é a existência de clones, devido ao melhoramento genético.

As técnicas conhecidas da sistemática botânica e da anatomia da madeira muitas vezes exigem especialidades em sistemática da família e em anatomia da madeira, que no Brasil são relativamente escassos. Conhecer totalmente o genoma do eucalipto também demonstra ser uma grande ferramenta de identificação, porém essa tecnologia ainda é insipiente e dispendiosa (GONZÁLEZ, 2002). O conhecimento da química das espécies é outra ferramenta interessante, e algumas classes de substâncias são utilizadas como marcadores quimiosistemáticos de um táxon botânico.

Quimicamente a madeira é constituída por celulose, lignina e hemiceluloses como componentes estruturais e por diversas substâncias não pertencentes à parede celular, denominadas de extrativos (SJÖSTRÖM & ALÉN, 1998; GULLICHSEN & PAULAPURO, 2000). Esse termo se refere às substâncias de baixa ou média massa molecular, que podem ser extraídas em água ou solventes orgânicos neutros. Os constituintes da madeira solúveis em água são principalmente alguns sais ou minerais inorgânicos, açúcares e polissacarídeos. As substâncias solúveis em solventes orgânicos pertencem às classes dos ácidos e ésteres graxos, álcoois de cadeia longa, esteróides, substâncias fenólicas e glicosídeos (SJÖSTRÖM & ALÉN, 1998; GULLICHSEN & PAULAPURO, 2000; FREIRE *et al.*, 2002; SUN & TOMKINSON, 2003; MORAIS *et al.*, 2005).

No caso de Myrtaceae a presença de tanino dificulta a escolha de um marcador. Uma das vias responsáveis pela presença de substâncias fenólicas, tanino hidrolisáveis e condensados do tipo flavonoídico, apresenta presença marcante no gênero *Eucalyptus*.

## RMN <sup>13</sup>C

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é sem dúvida uma das mais poderosas técnicas espectroscópicas nos estudos de estruturas e na dinâmica de moléculas orgânicas em solução e em estado sólido (KAISER, 2000). A RMN permite elucidar as estruturas moleculares de várias substâncias incluindo as que ocorrem na madeira.

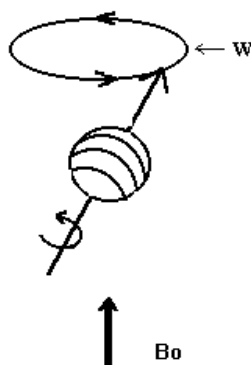
De acordo com CIENFUEGOS (2000), a técnica da RMN, além de não destrutiva, praticamente não apresenta desvantagens quando comparada com as técnicas tradicionais. As principais vantagens da RMN são: preparação muito simples, medição física, fácil de operar, rápido, robusto, software para análise, amostras das mais variadas formas e tamanhos.

A RMN é um fenômeno pelo qual um núcleo absorve a radiação eletromagnética de uma frequência específica, na presença de um forte campo magnético. Pode ser observada em qualquer isótopo que contém o spin total  $I > 0$ . Dentre os números quânticos que caracterizam as propriedades dos átomos, o número quântico de spin descreve a propriedade de alguns núcleos de possuir momento angular. O número quântico de spin é expresso em múltiplos de  $\frac{1}{2}$ , podendo ser + (positivo) ou - (negativo).

Infelizmente, sob o ponto de vista da determinação estrutural, a distribuição isotópica do carbono na natureza é de apenas 1,1% em <sup>13</sup>C (número quântico de spin,  $I = 1/2$ ) conferindo a RMN deste núcleo uma falta de sensibilidade intrínseca. A grande maioria dos átomos de carbono (98,9%) é constituída pelo isótopo magneticamente inerte, o <sup>12</sup>C ( $I = 0$ ) e por isso não gera sinais de RMN (MACEDO JR., 2007).

O fenômeno de RMN ocorre quando se coloca a amostra em um campo magnético  $B_0$  e os spins nucleares passam a precessionar em torno da direção desse campo (Figura 1) com uma frequência angular  $\omega_0$  (frequência de Larmor). A precessão é um movimento igual ao observado em um pião. Assim como o pião, o spin nuclear tem um movimento de rotação em torno do seu próprio eixo e um movimento de menor frequência em torno da direção do

campo magnético, que é o movimento de precessão. A frequência de precessão dos núcleos é proporcional ao campo magnético  $B_0$  e à razão giromagnética  $g$  ( $w = gB_0$ ), onde  $g$  é uma constante para cada isótopo. A condição de ressonância ocorre quando se aplica uma frequência igual à frequência de precessão do núcleo, e por ressonância os spins absorvem energia (COLNAGO, 1996).



**Figura 1.** Diagrama do movimento de precessão do spin em torno do campo magnético  $B_0$ .

O uso da RMN  $^{13}\text{C}$ , aplicado rotineiramente para a verificação estrutural de substâncias da madeira, assim como as técnicas espectroscópicas avançadas 1D e 2D, trouxeram avanços significativos para a elucidação estrutural de substâncias orgânicas encontradas em plantas. As técnicas DEPT, APT, HMQC, HMBC e HSQC entre outras, por exemplo, fornecem valores interativos dos deslocamentos químicos dos carbonos das substâncias isoladas (HARBONE, 1994; GOTTLIEB & YOSSHIDAS, 1989).

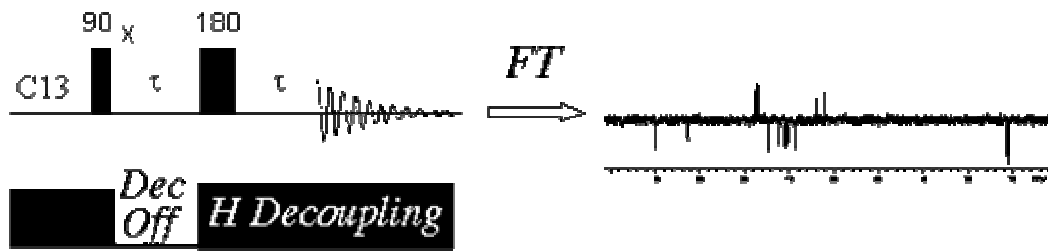
Ainda é rotina obter espectros em uma dimensão (1D) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e DEPT de determinadas substâncias, mesmo que em muitas situações estas duas últimas técnicas exijam um tempo de medida muito grande devido a baixa sensibilidade inerente do núcleo de  $^{13}\text{C}$  (1.59% relativa ao H) e normalmente, a pouca quantidade de amostra disponível ( $< 0.03$  mg/mol) (KAISER, 2000).

Não tão difundido quanto obter espectros 1D de substâncias orgânicas, é a prática de obter espectros em duas dimensões (2D), homo ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ ) e heteronucleares ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) (CROASMUN & CARLSON, 1994; SILVERSTEIN *et al.* 1995). As técnicas 2D permitem correlacionar hidrogênios e/ou carbonos que possuam alguma relação escalar ( $^nJ_{\text{H,H}}$ ,  $^nJ_{\text{C,H}}$ ,  $^nJ_{\text{C,C}}$ ) (BREITMAIER & VOELTER, 1987; SILVERSTEIN *et al.* 1995), ou espacial (H,H- ou H,C-NOE) entre si (SANDERS *et al.* 1989; DEROME, 1987; BREITMAIER & VOELTER, 1987; SANDER & MERSH, 1983).

A técnica de RMN  $^{13}\text{C}$  em solução pode contribuir para a identificação de madeiras, tendo como base à relativa proporção de carbonos em diferentes extratos e a determinação de deslocamentos químicos. Os dados de deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  são importantes ferramentas em uma determinação estrutural (SANDERS *et al.* 1989; DEROME, 1987; BRAUM *et al.* 1996; SILVERSTEIN *et al.* 1995).

A técnica experimental APT é uma das mais simples técnicas de detecção de multipletos em RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 2). Essa técnica consiste de um pulso de  $90^\circ$  que cria uma magnetização transversal, seguida por um pulso de  $180^\circ$  no meio do período de evolução. A modulação J é introduzida quando se desligar o desacoplador durante a metade do período de evolução. O controle do t de espera é diretamente relacionado à amplitude do sinal. A seqüência começa com um pulso de  $90^\circ$ , e o tempo de relaxamento é de  $1.26 \cdot T_1$  (Carbono). Essa seqüência deve ser usada para um tempo considerado ótimo de reciclagem.





**Figura 2.** Técnica experimental APT.

Esta seqüência foi posteriormente melhorada por Ernst que otimizou o ângulo do pulso (mudando o pulso de  $90^\circ$ ). Isto porque o pulso otimizado deixa a magnetização sobre o eixo +Z, o pulso spin echo inverte esta magnetização sobre o eixo -z. Portanto, segundo período de spin-echo tem que ser incorporado (com tempo de espera muito curto) para se inverter a magnetização -Z para traz sobre o eixo +Z axis. O ângulo de Ernst permite repetir o experimento mais rápido, sem a necessidade de incorporação de um tempo de espera. (Figura 3).



**Figura 3.** Técnica experimental APT melhorada.

## 2- OBJETIVOS

### 2-1. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Buscar um modelo de identificação de madeiras de clones de *E. grandis*; *E. urophylla* e do híbrido *E. grandis* x *E. urophylla* (*E. urograndis*) através da RMN de <sup>13</sup> C, haja vista a semelhança entre as madeiras do gênero *Eucalyptus*, sua origem genética já identificada e tratada como clones geneticamente idênticos.

### 2-2. OBJETIVOS GERAIS

- Verificar as principais diferenças anatômicas entre as espécies *E. grandis*; *E. urophylla* e do híbrido *E. grandis* x *E. urophylla* (*E. urograndis*).
- Verificar possíveis alterações entre os teores de extrativos nas regiões do alburno, zona de transição e cerne.
- Verificar para fins sistemáticos de identificação se os teores de extrativos revelam algum propósito.

### 3- REVISÃO DE LITERATURA

#### 3-1. Estrutura anatômica das madeiras de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus urophylla* e do híbrido *Eucalyptus urograndis*

O gênero *Eucalyptus* apresenta-se como matéria-prima de uso múltiplo, pois além da utilização preferencial do tronco das árvores para a celulose e papel (BUSNARDO *et al.*, 1978), outras aplicações foram agregadas, como o de madeira sólida serrada (SANTOS, 1994), energia e chapas (GARLIPP, 1982; MORO, 1994), além da produção de óleos voláteis.

A caracterização da estrutura anatômica da madeira de eucalipto é importante, considerando as variações existentes entre e dentro das espécies. A madeira de eucalipto apresenta uma estrutura heterogênea resultante das variações de seus elementos anatômicos, tornando-se importante determinar os padrões de variações existentes, visando, principalmente, definir sua utilização mais adequada (TOMAZELLO FILHO, 1985a).

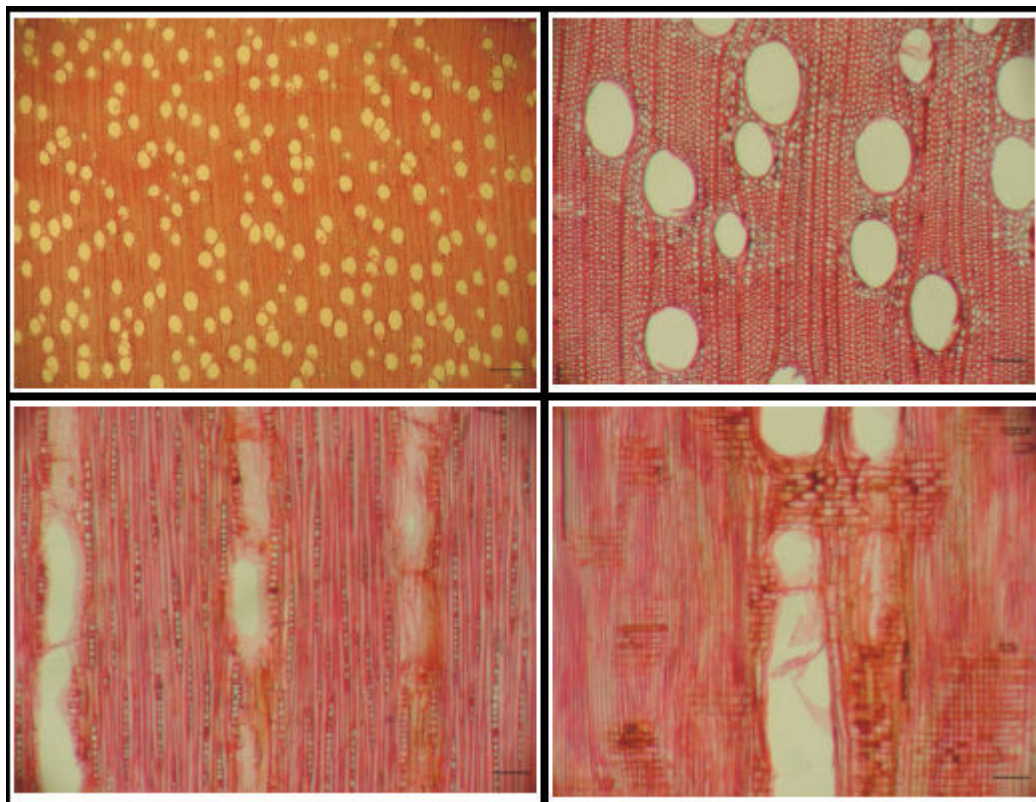
No Brasil, os estudos de anatomia do lenho e da casca realizados por ANGYALOSSY-ALFONSO (1983, 1987) e de anatomia do lenho realizados por TOMAZELLO FILHO (1985 a) com as espécies de *Eucalyptus*, trouxeram contribuições para a identificação dentro do gênero.

O processo de identificação científica de uma amostra de madeira envolve diversas etapas. O primeiro passo é uma análise da amostra em relação à cor, desenhos e densidade. Depois as superfícies transversais e tangenciais devem ser polidas com navalhas para que possam ser visualizadas as características anatômicas, tais como: anéis de crescimento, raios, vasos e parênquima. Deve ser analisada a porosidade, tamanho de raio, presença de estratificação, arranjo dos vasos e arranjo do parênquima. Muitas madeiras são identificadas macroscopicamente, mas outras precisam de análise microscópica para complementar as informações (composição dos raios; presença de células oleíferas; placas de perfuração; pontuações intervaseculares; espessamentos; tilos; gomas; cristais; sílica; fibras septadas, etc.) (CORE, 1979).

##### 3-1-1. Descrição Anatômica de *E. grandis*

Cerne distinto do alburno e de cor rosa claro, brilho moderado, odor imperceptível, massa específica baixa a média, macia ao corte, grã direita, textura média. Camadas de crescimento bem distintas, demarcadas pela espessura da parede celular das fibras. Vasos visíveis a olho nu e sob lente (10x); difusos; arranjo diagonal; solitários predominantes (97%) e múltiplos de 2 (geminados) (3%), frequência 9-14/mm<sup>2</sup>; diâmetro tangencial do lume 61,44-138,7 µm, média 106 µm e desvio padrão 20,49 de formato ovalado com maior frequência do que o esférico; comprimento dos elementos vasculares 242,04-509,29 µm, média 336,19 µm e desvio padrão 90,42; apêndice curto, menor que 1/3 do comprimento do vaso e em ambos extremos; placas de perfuração simples; depósitos indistintos; pontuações intervaseculares indistintas; pontuações raio-vasculares areoladas, alternas, arredondadas, abundantes, diâmetro tangencial 4,46-6,25 µm, média de 5,58 µm e desvio padrão de 1,05; pontuações parênquimo-vasculares alternas, circulares a ovaladas, abundantes, diâmetro tangencial 5,16-6,27 µm, média de 5,91 µm e desvio padrão de 0,59. Fibras libriiformes com pontuações muito pequenas, septadas, fibrotraqueídes presentes (com pontuações areoladas, grandes), curtas a longas, comprimento 670-1230 µm, média 1030 µm e desvio padrão 0,23; largura 17,71-22,77 µm, média 20,99 e desvio padrão 2,01; diâmetro do lume 6,35-10,67 µm, média

9,58  $\mu\text{m}$ ; espessura da parede delgada 3,64-7,65  $\mu\text{m}$ , média 5,70  $\mu\text{m}$ . Parênquima axial invisível a olho nu e distinto sob lente (10x); paratraqueal escasso; células de tipo seriado. Parênquima radial (raios) visível sob lente (10x), unisseriados predominantes (97%) e localmente bisseriados raros (3%); altura 0,16-0,18  $\mu\text{m}$ , média 0,16  $\mu\text{m}$ , frequência 13-16/mm, média 15/mm; homocelulares, procumbentes; com 6-21 células de altura; largura de 13,96-19,12  $\mu\text{m}$ . (Figura 4) (ALZATE, 2004).

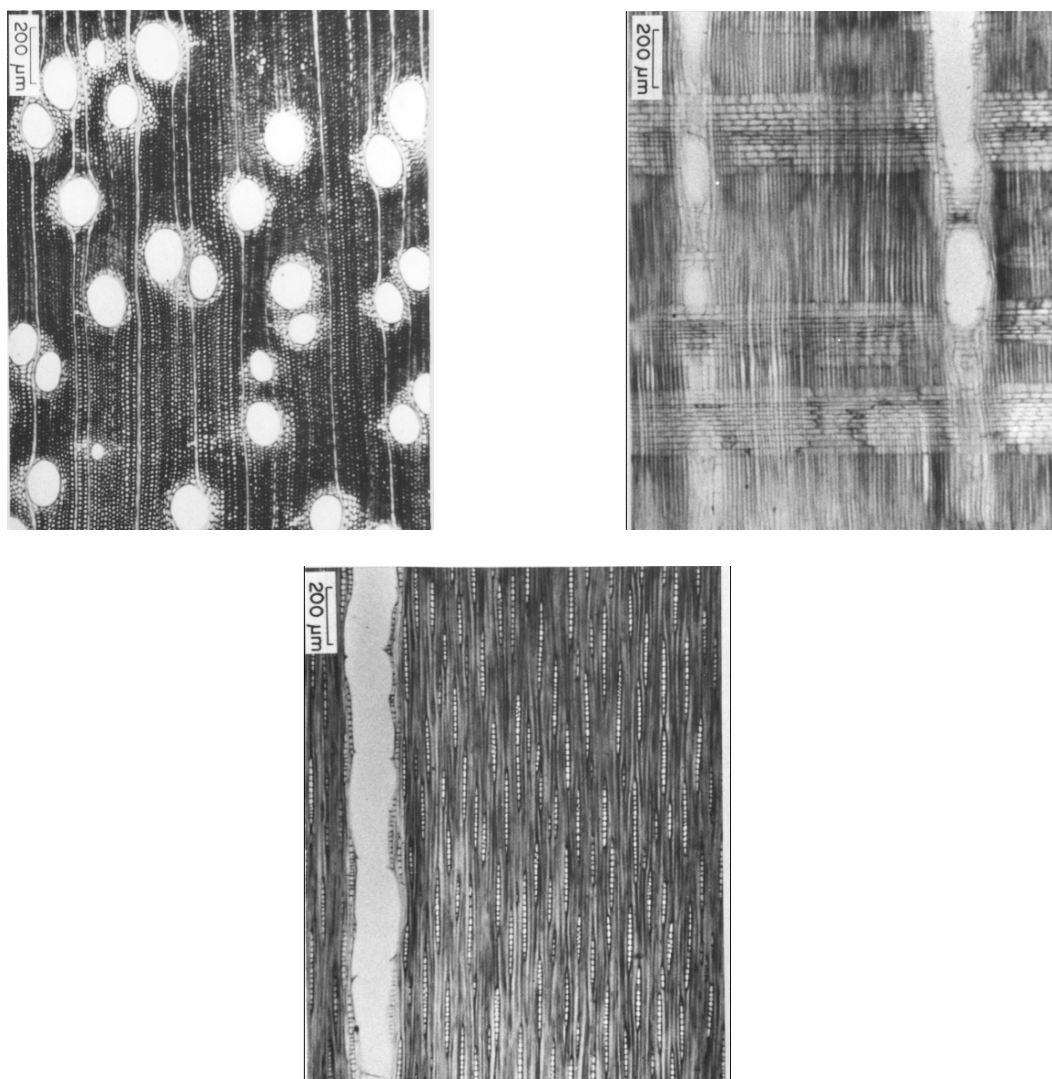


**Figura 4.** *E. grandis* – (a) seção transversal (10x), (b) seção transversal (50x), (c) seção longitudinal tangencial (50x), (d) seção longitudinal radial (50x). Fonte: ALZATE, 2004.

### 3-1-2. Descrição Anatômica de *E. urophylla*

Alburno e cerne pouco distintos quanto à cor; alburno bege levemente rosado; cerne bege-rosado. Madeira com pouco brilho; odor imperceptível; macia ao corte; grã direita e levemente revessa, textura fina à média. Camadas de crescimento pouco distintas, quando presentes demarcadas por zonas de maior espessamento das paredes das fibrotraqueídes e menor frequência de poros. Vasos visíveis a olho nu e sob lente (10x); difusos; exclusivamente solitários, disposição diagonal; frequência 6-15/mm<sup>2</sup>; diâmetro tangencial do lume 84-148  $\mu\text{m}$ , média 116  $\mu\text{m}$ ; comprimento 217-800  $\mu\text{m}$ , média 477  $\mu\text{m}$ ; apêndice ausentes ou presentes em uma ou ambas extremidades, curtos e longos; placas de perfuração simples; pontoações intervasculares pequenas a grandes, predominando as médias; pontoações raio-vasculares pequenas (43%) e grandes (57%), arredondadas, simples, com aréolas incompletas. Fibrotraqueídes presentes, extremamente curtas (7%), muito curtas (56%) e curtas (49%). Parênquima axial pouco visível mesmo sob lente (10x); paratraqueal vasicêntrico a eventualmente aliforme, com 2-6 células de largura. Parênquima radial (raios) visível sob lente (10x), unisseriados (47%), localmente bisseriados (19%) e bisseriados (34%); altura 0,13-0,42  $\mu\text{m}$ , média 0,25  $\mu\text{m}$ , com 4-18 células de altura; frequência 7-15/mm,

média 11/mm; homogêneos e menos freqüente heterogêneos tipo III; largura de 10-20  $\mu\text{m}$ . (Figura 5) (ANGYALOSSY-ALFONSO, 1987).

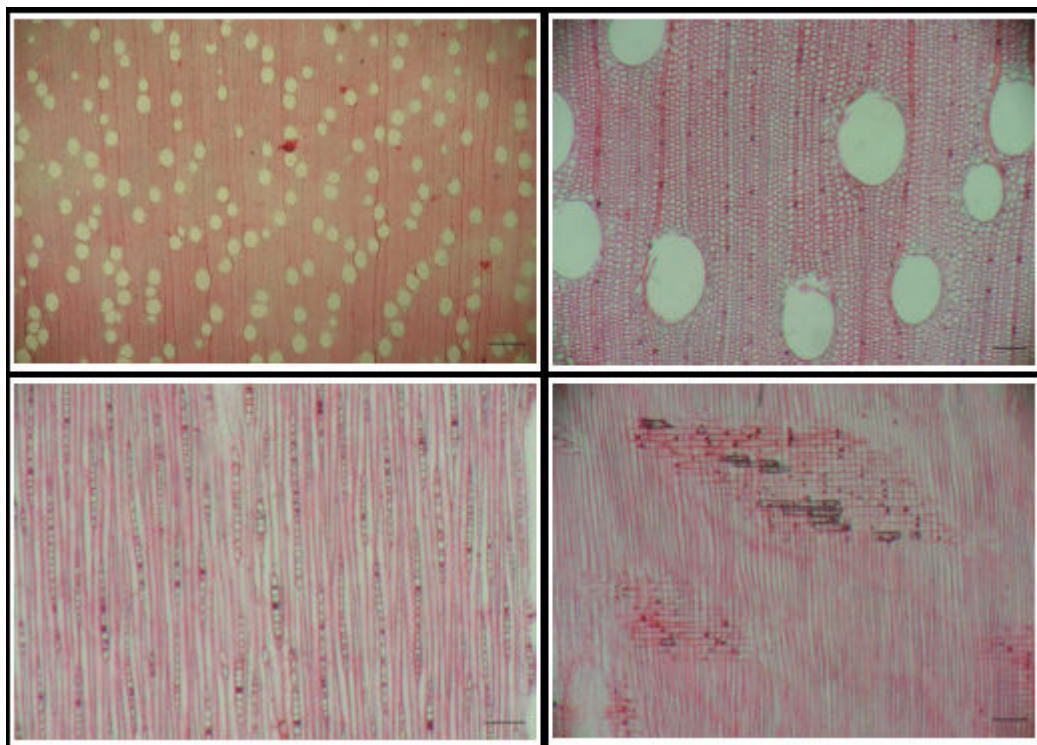


**Figura 5.** *E. urophylla* – (a) seção longitudinal tangencial (100x), (b) seção longitudinal radial (100x), (c) seção transversal (40x). Fonte: ANGYALOSSY-ALFONSO, 1987.

### 3-1-3. Descrição Anatômica do híbrido *E. urograndis*

Carne distinto do albúrnio e de cor rosa claro, brilho moderado, odor imperceptível, gosto imperceptível, densidade de massa baixa a média, macia ao corte, grã direita, textura média. Camadas de crescimento pouco demarcadas devido à espessura da parede das fibras nos dois lenhos (primaveril e outonal). Vasos visíveis a olho nu e sob lente (10x); difusos; arranjo diagonal; solitários predominantes (98%), raros geminados (2%), as vezes formando arranjos oblíquos, freqüência 8-13/mm<sup>2</sup>; diâmetro tangencial do lume 76,91-133,25 $\mu\text{m}$ , média 103,63  $\mu\text{m}$  e desvio padrão 14,81 e forma predominantemente ovalada a circular; comprimento 239,86-482,78  $\mu\text{m}$ , média 342,26  $\mu\text{m}$  e desvio padrão 104,79; apêndice curto, menor que 1/3 do comprimento do vaso e em ambos extremos; placas de perfuração simples; depósitos indistintos; pontoações intervasculares indistintas; pontoações raio-vasculares areoladas, alternas, arredondadas, abundantes, diâmetro tangencial 4,59-7,43  $\mu\text{m}$ , média de 5,33  $\mu\text{m}$  e desvio padrão de 1,03; pontoações parênquimo-vasculares alternas, circulares a ovaladas, abundantes, diâmetro tangencial 4,28-6,56  $\mu\text{m}$ , média de 5,43  $\mu\text{m}$  e desvio padrão

de 0,87. Fibras com pontoações indistintas, curtas a longas, fibrotraqueídes presentes, com pontoações areoladas, grandes, comprimento 670-1270  $\mu\text{m}$ , média 1030  $\mu\text{m}$  e desvio padrão 0,25; largura 17,28-20,93  $\mu\text{m}$ , média 19,69  $\mu\text{m}$  e desvio padrão 1,59; diâmetro do lume 7,33-10,48  $\mu\text{m}$ , média 9,68  $\mu\text{m}$ ; espessura da parede delgada 3,48-6,71  $\mu\text{m}$ , média 5,01  $\mu\text{m}$ . Parênquima axial invisível a olho nu e distinto sob lente (10x), vasicêntrico, de bainhas estreitas; células de tipo seriado. Parênquima radial (raios) visível sob lente (10x), unisseriados (97%) e bisseriados (3%); altura 0,16-0,20  $\mu\text{m}$ , média 0,18 $\mu\text{m}$ , frequência 10-17/mm, média 14/mm; homocelulares, procumbentes; com 10-19 linhas de células; largura de 9,13-17,95  $\mu\text{m}$ . (Figura 6) (ALZATE, 2004).



**Figura 6.** *E. urograndis* – (a) seção transversal (10x), (b) seção transversal (50x), (c) seção longitudinal tangencial (50x), (d) seção longitudinal radial (50x). Fonte: ALZATE, 2004.

### 3-2. *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden

O *E. grandis* é uma espécie nativa do Norte de Nova Gales do Sul e da costa sul de Queensland, na Austrália. Distribuiu-se principalmente entre as latitudes 26 a 32° Sul e altitudes de 0-300 m e se adapta muito bem em regiões com precipitação entre 1000 e 1750 mm e valores de temperaturas médias máximas entre 29-32°C e médias mínimas entre 5-6°C (FAO, 1981). As árvores dessa espécie são perenifólias, de 20-40 m de altura. Apresentam folhas juvenis opostas, depois alternas, oval-lanceoladas, pecioladas; as adultas lanceoladas, falcadas, verde-escuras, brilhantes, com ápice agudo e margens levemente onduladas, de 10-20 cm de comprimento, com pecíolo de 2-3 cm (LORENZI *et al.*, 2003). Entretanto, os clones carecem de maiores informações. Nos testes realizados foi considerado que os clones representam fielmente a carga genética das matrizes utilizadas.

A madeira é constituída majoritariamente, pela celulose, lignina e hemicelulose, que são responsáveis pela estrutura da parede celular e pela maioria de suas propriedades. Estas substâncias formam uma espécie de rede multimolecular constituindo em ligações cruzadas. Esse complexo multimolecular garante a estrutura e a estabilidade da célula. Outras

substâncias são consideradas especiais e apresentam variabilidade em quantidade, constituição e estrutura (LEPAGE, 1986).

As madeiras são ricas em substâncias de baixa massa molecular solúveis em solventes orgânicos neutros e conhecidas na química da madeira como extrativos, encontrando-se incrustadas nos espaços inter e intracelulares. Essas substâncias muitas vezes revelam características genéticas e podem ser usadas como marcadores quimiosistemáticos. Adicionalmente, em virtude de suas propriedades, assumem caráter essencial por apresentarem funções específicas de diversas naturezas. Por exemplo, a durabilidade natural da madeira é conferida pelas suas substâncias complementares (extrativos), que na maioria das vezes são representados por pequenas proporções (OLIVEIRA *et al.* 2005), entretanto, OLIVEIRA & DELLA LUCIA (1994) ao determinarem os teores de extrativos de 27 espécies de madeiras, encontraram valores bastante elevados. A quantidade e o tipo dessas substâncias são diferentes entre espécie, gêneros, famílias e entre os níveis hierárquicos botânicos mais elevados.

Nas últimas décadas, observou-se um significativo aumento nas informações tecnológicas básicas sobre as propriedades da madeira do gênero *Eucalyptus*, intensificando o seu emprego. RECORD & HESS (1949) caracterizaram a madeira das espécies do gênero *Eucalyptus* como na maioria das vezes dura, densa, resistente, com textura fina e baixa estabilidade dimensional.

Dentre as espécies do gênero *Eucalyptus*, se destaca o *E. grandis*, cuja cultura tem demonstrado ser uma das mais produtivas e competitivas do mundo. Segundo MORA & GARCIA (2000), esta espécie supera qualquer outra em incremento volumétrico em condições ambientais adequadas, sendo a mais plantada no Brasil devido a sua plasticidade genética, obtenção de híbridos e clonagem de árvores selecionadas.

Outro fato mais recente relacionado ao gênero *Eucalyptus* é a existência de clones interligados ao melhoramento genético. A primeira plantação clonal foi estabelecida em 1979 em mil hectares no Estado do Espírito Santo (Brasil), com ganhos expressivos em produtividade e qualidade da madeira (RUY, 1998). A partir desse período a preferência pela clonagem vem crescendo devido à consolidação dos ganhos a partir do melhoramento genético, promovendo a homogeneização das propriedades tecnológicas da madeira, com benefícios para qualidade do produto final, altamente desejável na atividade industrial (SILVA *et al.*, 2003).

### **3-3. *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake**

O *E. urophylla* é uma espécie nativa da Indonésia, do Arquipélago Sonda. Distribui-se principalmente entre 7° 30' a 10° de latitude e 305 a 2960m de altitude. A longitude varia de 122 a 127°E. Nesta região, as precipitações anuais variam de 600 a 2500 mm e o clima subtropical seco a tropical úmido com aproximadamente 4 a 5 meses secos por ano. A temperatura média máxima está entre 27-29°C aos 400m de altitude e 17 a 21°C a 1900m de altitude (MARTIN & COSSALTER, 1975).

O *E. urophylla* possui duas variedades distintas, sendo uma de casca fibrosa, folhas lanceoladas, procedentes da ilha do Timor, de altitudes elevadas (acima de 1000m), variedade esta utilizada por BLAKE (1977) para descrever a espécie e outra de casca lisa em diferentes proporções de fuste e folhas com formas e tamanhos variáveis (MARTIN & COSSALTER, 1975; VIEIRA & BUSCAN, 1980). Para LORENZI *et al.* (2003) as árvores dessa espécie são perenifólias de 25-35 metros de altura, com tronco ereto e cilíndrico, revestido por casca grossa dotada de fissuras finas longitudinais de cor cinza-escura. Ramagem oblíqua, formando copa alongada. Folhas simples, as jovens obovadas e as adultas oblanceoladas com base geralmente assimétrica, coriáceas, lustrosas, discolores (face inferior mais clara), com a

nervura principal bem destacada, de margens inteiras e ápice longo-acuminado, de 10-19 m de comprimento, com pecíolo de 1,5-2,2 cm e de coloração clara.

O gênero *Eucalyptus* pertence a família Myrtaceae, com aproximadamente 600 espécies, muitas variedades e híbridos. É na maioria das vezes representado por plantas de hábitos arbóreos, com alta taxa de crescimento e plasticidade (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Dentre as espécies do gênero *Eucalyptus* cultivadas no Brasil, o *E. urophylla*, é uma das espécies mais plantadas, ocupando uma área de aproximadamente seiscentos mil ha FERREIRA, (1999); MORA & GARCIA (2000), já que apresenta o maior potencial de crescimento em termos de área plantada em função da resistência ao fungo *Cryphonectria cubensis*, causador do cancro do eucalipto (FERREIRA, 1989). Tal resistência consegue ser superior à apresentada por procedências de *E. grandis* (MOURA *et al.*, 1980). A primeira introdução de *E. urophylla* no Brasil foi realizada por Edmundo Navarro de Andrade antes de 1919 com o nome de *E. Alba*. Em Rio- Claro, SP, encontra-se o talhão mais antigo de *E. urophylla*, hoje com mais de 80 anos (GOLFARI *et al.*, 1978).

A madeira de *E. urophylla* possui densidade mediana MOURA (1986), cor clara com cerne de rosa a marrom. Tem sido utilizada para os mais diversos fins (produção de polpa celulósica e papel, chapas duras, serraria, produção de carvão entre outros). Essa diversidade de uso está correlacionada com a composição química da madeira e por diversas substâncias não pertencentes à parede celular (extrativos) (SJÖSTRÖM & ALÉN, 1998; GULLICHSEN & PAULAPURO, 2000).

### **3-4. O híbrido *Eucalyptus urograndis***

Nas últimas décadas, observou-se um significativo aumento nas informações tecnológicas básicas sobre as propriedades da madeira e seus constituintes químicos de árvores de espécies do gênero *Eucalyptus*, intensificando o seu emprego. ACOSTA (1998) afirma que países como Argentina, Uruguai, Chile e Paraguai também estão utilizando esta madeira nas indústrias de segunda transformação, como o caso de revestimentos, molduras, pisos, vigas laminadas, painéis colados lateralmente e principalmente móveis.

O *Eucalyptus spp.* pode ser uma fonte de riqueza econômica e social, gerando empregos e mantendo o homem no campo, pois além de ser utilizado como matéria-prima para indústria de papel e celulose, chapas de fibras, aglomerados, madeira serrada e móveis outras vantagens podem ser citadas, tais como: geração de energia, capacidade de captação de CO<sub>2</sub>, proteções de solos contra erosão (ARACRUZ CELULOSE, 2000).

Em 1950, Bouvier, engenheiro florestal francês, descobriu, casualmente, a possibilidade de propagação de materiais juvenis de eucalipto por estaquia. A heterogeneidade dos plantios e a incidência de cancro (*Cryphonectria cubensis*), na década de 70, foram decisivas para o desenvolvimento da técnica de clonagem no Brasil, considerada hoje como referência mundial no controle de doenças do eucalipto (ALFENAS *et al.*, 2004).

A susceptibilidade ao cancro do eucalipto, aliada a baixa capacidade de rebrota em climas sujeitos a deficiências hídricas, limitaram a utilização extensiva do *E. grandis*. Como conseqüência, a síntese do híbrido *E. grandis* x *E. urophylla*, passou a ser à base da silvicultura intensiva clonal brasileira (RUY, 1998). A hibridação tem sido utilizada, por exemplo, para transferir resistência ao cancro do eucalipto para *E. grandis*, mediante o seu cruzamento com *E. urophylla* (MARTINS & IKEMORI, 1987).

A rusticidade, propriedades da madeira e a resistência ao déficit hídrico do *E. urophylla*, fazem com que as plantas desta espécie possuam alto potencial para programas de hibridação com *E. grandis*, que possui um bom desenvolvimento silvicultural, sendo possível obter um material mais homogêneo e com qualidade de madeira desejável (GOUVÊA *et al.*, 1997).



Para o desenvolvimento do híbrido foram utilizadas matrizes procedentes de outros continentes (*E. grandis* X *E. urophylla*). O *E. grandis* é uma espécie nativa do Norte de Nova Gales do Sul e da costa sul de Queensland, na Austrália. Distribui-se principalmente entre as latitudes 26 a 32° Sul e altitudes de 0-300m e se adapta muito bem em regiões com precipitação entre 1000 e 1750 mm e valores de temperaturas médias máximas entre 29-32°C e médias mínimas entre 5-6°C (FAO, 1981). A segunda espécie matriz, o *E. urophylla*, de acordo com BOLAND *et al.* (1992), procede de países com Austrália, Papua Nova Guiné, Filipinas e Timor, regiões onde o clima é tropical a subtropical úmido e o regime de precipitação anual é de 1000 a 1500 mm.

O melhoramento de plantas consiste basicamente em modificar seu patrimônio genético, com a finalidade de obter variedades, ou híbridos, capazes de apresentar maior rendimento possível, com produtos de alta qualidade e capazes de se adaptar às condições de um determinado ambiente, além de exibirem resistência às pragas e doenças (SANTOS, 2005).

O aumento da qualidade da madeira de *Eucalyptus* spp, realizado através de melhoramento genético pode torná-lo a matéria-prima básica para a maioria dos produtos a base de madeira. Portanto o conhecimento físico, químico e anatômico desse gênero deverá de ser bem estudado para atender tal demanda.

### 3-5. RMN <sup>13</sup>C

Em muitos casos e principalmente em relação ao gênero *Eucalyptus* à identificação botânica através de métodos usuais, muitas vezes esbarram em similaridades (conflitos de observação), podendo chegar na melhor das hipóteses ao nível de gênero. O conhecimento do perfil químico das espécies vegetais é uma ferramenta interessante durante o processo de identificação e algumas classes de substâncias são utilizadas como marcadores quimiosistemáticos de um táxon botânico.

A utilização da técnica RMN <sup>13</sup>C pode ser uma nova ferramenta para dirimir dúvidas na identificação de espécies botânicas lenhosas, já que esta permite elucidar as estruturas moleculares de várias substâncias que ocorrem em madeiras. CIENFUEGOS (2000) relata as principais vantagens da RMN: preparação muito simples e fácil obtenção de dados de amostras das mais variadas formas e tamanhos.

O uso da RMN <sup>13</sup>C aplicado rotineiramente para a verificação estrutural de substâncias da madeira, assim como as técnicas espectroscópicas avançadas 1D e 2D, trouxeram avanços significativos para a elucidação estrutural de substâncias orgânicas encontradas em plantas. As técnicas DEPT, APT, HMQC, HMBC e HSQC, por exemplo, fornecem valores de correlação dos deslocamentos químicos dos carbonos e respectivos hidrogênios das substâncias (HARBONE, 1994; GOTTLIEB & YOSHIDAS, 1989).

De forma geral a RMN pode representar uma ferramenta interessante capaz de fornecer o perfil do carbono molecular para uma espécie, que dificilmente se repete integralmente em outras madeiras.

A RMN é um fenômeno que pode ser observado com qualquer isótopo que contém o spin total I>0. Os mais usados são o hidrogênio (<sup>1</sup>H), e o (<sup>13</sup>C), visto que ambos apresentam spin (I=1/2) (CONALGO, 1996).

A RMN <sup>13</sup>C tem sido umas das técnicas de análises mais elucidadoras que existe atualmente. A utilização de espectros de extratos brutos é limitada e nunca foi usada como ferramenta para caracterizar madeira sob este ponto de vista. Entretanto, a imensa quantidade de absorções que representam todos os carbonos das substâncias pode significar uma forma de impressão digital da madeira. A relação do deslocamento químico dos carbonos e os seus tipos podem trazer informações mais do que a existência de diferentes substâncias e pode ser

um retrato da composição como um todo, cujas características refletem a natureza do lenho e sua origem genética. Na realidade a coleta de dados visa apenas informações sobre o deslocamento químico dos átomos de carbono, sem considerar sua características quanto a vizinhança e sua substituição. Um perfil espectral baseado no deslocamento químico foi gerado para cada representante estudado.

## 4- MATERIAL E MÉTODOS

### 4-1. Coleta do material

A coleta de material para análise foi realizada em parceria com a ARACRUZ FLORESTAL S. A., localizada no Estado do Espírito Santo. As amostras foram provenientes de clones de árvores da espécie *E. grandis*, *E. urophylla* e do híbrido *E. urograndis*. Foram selecionadas 4 árvores das espécie e do híbrido em 2 áreas diferentes, dando preferência às adultas e saudáveis com idade aproximada de 15 anos (Tabela 1). O material de estudo foi obtido em formato de disco com 5 cm de espessura e retirado ao DAP (diâmetro a altura do peito).

**Tabela 1.** Material de clones do gênero *Eucalyptus*, coletado na ARACRUZ-ES.

Área	Representação	Indivíduo	Posição do Disco	Altura da Árvore	Material Genético	Clone
159	I	1	DAP	37,6	AR8	<i>E. grandis</i>
159	I	2	DAP	38,0	AR8	<i>E. grandis</i>
407	II	1	DAP	46,8	AR8	<i>E. grandis</i>
407	II	2	DAP	44,0	AR8	<i>E. grandis</i>
162	I	1	DAP	38,50	AR5	<i>E.urophylla</i>
162	I	2	DAP	41,20	AR5	<i>E. urophylla</i>
406	II	1	DAP	44,90	AR5	<i>E. urophylla</i>
406	II	2	DAP	43,00	AR5	<i>E. urophylla</i>
157	I	1	DAP	40,20	AR4	<i>E.urograndis</i>
157	I	2	DAP	39,20	AR4	<i>E. urograndis</i>
406	II	1	DAP	47,50	AR4	<i>E. urograndis</i>
406	II	2	DAP	48,50	AR4	<i>E. urograndis</i>

### 4-2. Preparação das amostras

Nos discos obtidos de cada árvore, foram identificadas as regiões do alburno, zona de transição e cerne. De cada região retiraram-se amostras. Dessas amostras, foram obtidos cavacos de madeira (3 cm de comprimento e 0,6 mm de espessura). Utilizando-se um moinho de facas do tipo Willey, os cavacos foram convertidos em serragem.

O material empregado nas análises químicas foi aquele que passou pela peneira número 16 internacional (malha 40 ASTM) e o que ficou retido na peneira número 24 internacional (malha 60ASTM).

### 4-3. Obtenção dos Extratos

Na extração, empregou-se o aparelho de soxhlet (Figura 7, A), utilizando-se 16,00g de madeira moída seca ao ar livre e homogeneizada de cada parte do disco. O material foi acondicionado em um cartucho confeccionado com papel filtro e colocado dentro do tubo de extração. O solvente foi colocado em um balão de 1000 mL obedecendo à escala eluítrópica na ordem crescente de polaridade (ciclohexano; acetado de etila; metanol). O tempo de extração para cada solvente foi de 48 h ininterruptas. Logo após esse período, o balão de vidro contendo o material solúvel, foi concentrado em um rotavapor (Figura 7, B). Os concentrados foram transferidos para um recipiente até a completa evaporação do solvente em temperatura ambiente.

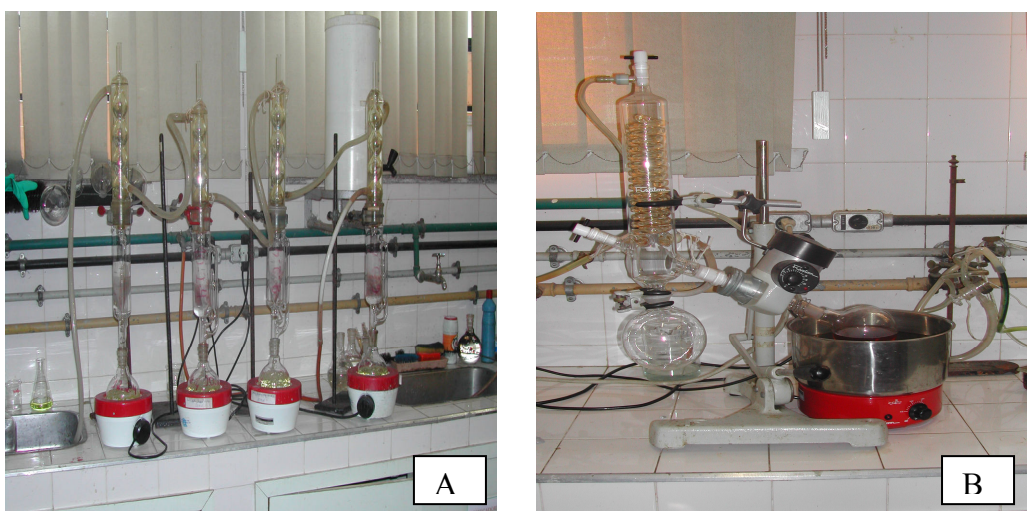


Figura 7. Aparelhos utilizados na extração: Soxhlet (A) e Rotavapor (B).

### 4-4. RMN $^{13}\text{C}$

Os espectros dos extratos foram obtidos em um espectrômetro VARIAN Mercury plus (300 MHz para  $^1\text{H}$ , 75,46 MHz para  $^{13}\text{C}$ ), utilizando a sonda de 5 mm de diâmetro interno, à temperatura ambiente e pulso de  $45^\circ$ . Os deslocamentos químicos (ppm) foram referenciados no RMN  $^{13}\text{C}$  ao  $\text{CDCl}_3$  (77,0 ppm) e  $\text{CD}_3\text{OD}$  (49,0 ppm), respectivamente. O uso da técnica complementar APT (Attached Proton Test) com a seqüência de pulsos auxiliou nas identificações e correlações dos carbonos (BREKTMAEIR & VOELTER, 1987).

A obtenção dos espectros foi realizada no Centro de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química da UnB.

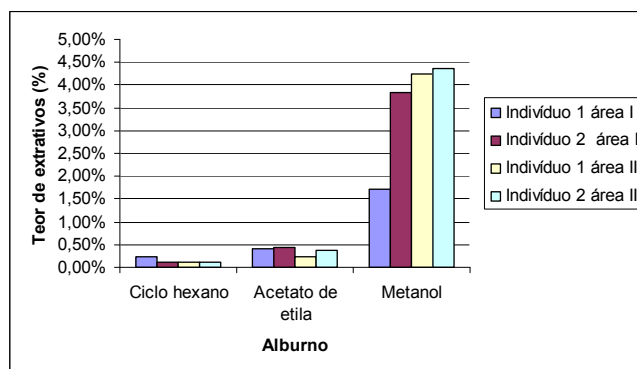
## 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5-1. Teores de extrativos

#### 5-1-1. *E. grandis*

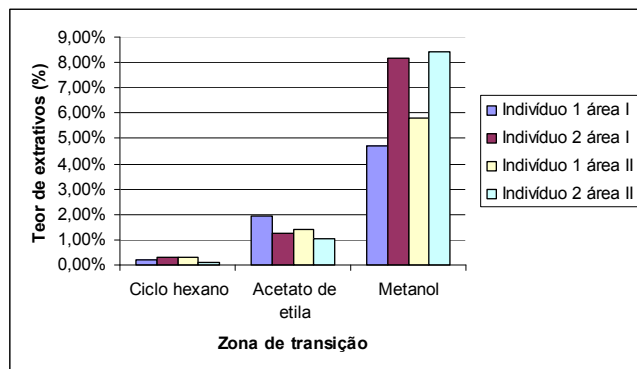
Os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras das quatro árvores mantiveram-se quantitativamente constantes nas três regiões (alburno, zona de transição e cerne). Os teores dos extratos de acetato de etila apresentaram o mesmo comportamento. Quanto aos teores dos extratos metanólicos, alterações foram observadas nas três regiões estudadas. (Figuras 8, 9 e 10).

Nos alburnos, os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras das árvores 1 e 2 da área I e das árvores 1 e 2 da área II revelaram que não existem diferenças significativas, pressupondo que em todas as amostras o processo fisiológico manteve quantitativamente a mesma relação, significando que os clones estudados das regiões distintas não se modificaram, mantendo suas características genéticas quanto a esse fator. Quanto aos efeitos ecofisiológicos, por se tratarem de amostras de origem ecológicas diferentes, não sofreram modificações, revelando que no alburno não houve mudança significativa, o mesmo ocorreu para os teores dos extratos de acetato de etila. Quanto aos teores dos extratos metanólicos, o indivíduo 1 da área I destacou-se dos demais, apresentando o menor teor (Figura 8).



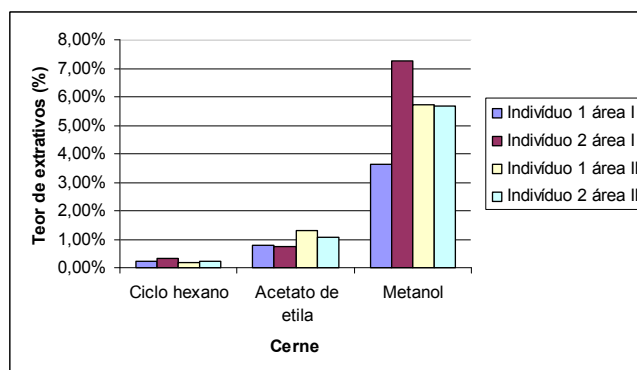
**Figura 8.** Valores em porcentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do **alburno** do lenho de *E. grandis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

Os teores dos extratos da madeira da zona de transição mostraram diferenças. Os extratos ciclohexânicos e acetato de etila foram semelhantes quantitativamente para todos os indivíduos, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos, já que o indivíduo 1 da área I e o indivíduo 1 da área II se diferenciaram dos demais. Isso mostra que os extratos polares foram mais influenciados com as diferentes condições ecológicas. (Figura 9).



**Figura 9.** Valores em percentagens dos teores dos extratos de ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região da **zona de transição** do lenho de *E. grandis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

Os teores dos extratos da madeira do cerne mostraram-se diferenciados quantitativamente com relação aos extratos mais polares, confirmando que o extrato polar neste caso foi mais influenciado pelo aspecto ambiental. (Figura 10).



**Figura 10.** Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do **Cerne** do lenho de *E. grandis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

A variação dos teores dos extrativos da madeira pode ocorrer devido a atributos fisiológicos, ecológicos e genéticos.

A natureza e a quantidade de metabólitos especiais produzidos durante o desenvolvimento do vegetal podem ser afetadas pela radiação (alta ou baixa), temperatura (excessivamente elevada ou baixa), precipitação (alta, deficiente e seca total), ventos fortes, altitude, solo, época de coleta, entre outros (EVANS, 1991; VITTI & BRITO, 1999; LARCHER, 2000; CALIXTO, 2001; GOUINUENÉ & TURLINGS, 2002).

Neste caso, o comportamento fisiológico pode se manifestar muitas vezes dependendo de outros fatores. O estresse hídrico, as condições de nutrição e as condições edáficas, por exemplo, comprometem o funcionamento fisiológico normal, verificado nos indivíduos.

A ocorrência de déficit hídrico em plantas cultivadas afeta o crescimento e o desenvolvimento das culturas em todo o mundo (SANTOS & CARLESSO, 1998).

O déficit hídrico é uma situação comum à produção de muitas culturas, podendo apresentar um impacto negativo substancial no crescimento e desenvolvimento das plantas LECOEUR & SINCLAIR (1996), assim, existe um conflito entre a conservação da água pela planta e a taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> para produção de carboidratos (TAIZ & ZEIGER, 1991). A necessidade em se resolver este conflito leva a planta a desenvolver mecanismos morfofisiológicos, que as conduzem a economizar água para uso em períodos posteriores (McCREE & FRENANDEZ, 1989).

As respostas mais proeminentes das plantas ao déficit hídrico, segundo McCREE & FRENANDEZ (1989) e TAIZ & ZEIGER (1991), consistem no decréscimo da produção da área foliar, do fechamento dos estômatos, da aceleração da senescência e da abscisão das folhas.

A demanda de nutrientes pela planta depende da sua taxa de crescimento e da eficiência com que ela converte os nutrientes absorvidos em biomassa. Para um mesmo material genético, numa determinada região, há uma relação relativamente estreita entre a taxa de crescimento e o acúmulo de nutrientes na biomassa (BARROS *et al.*, 2000). Entretanto, diferenças na eficiência nutricional entre procedências e híbridos de eucalipto têm sido constatadas, podendo representar um fator importante na economia ou no emprego mais racional de fertilizantes (MOLICA, 1992; PAULA *et al.*, 1997).

As culturas florestais como qualquer população natural, estão sujeitas a uma série de fatores ecológicos que, direta ou indiretamente, podem afetar o crescimento das árvores, a produção de madeira, carvão e celulose. Algumas importantes contribuições são as perturbações causadas pela ação do fogo e da chuva. Gerando muitas vezes em espécies do gênero *Eucalyptus* um bolsão de material fenólico.

Fatores ambientais e genéticos, operando conjuntamente por meio de processos fisiológicos, controlam o crescimento e desenvolvimento das plantas. A luz, especialmente considerando-se a duração do período luminoso ou fotoperíodo, corresponde a um dos principais aspectos da interação das plantas com seu ambiente, controlando o seu desenvolvimento, a floração (GARNER & ALLARD, 1920), a germinação de sementes (CLEMENTE FILHA, 1996), o crescimento de caules e folhas (JUNTILLA *et al.*, 1990), a formação de órgãos de reservas (FARIA, 1998) e a partição de assimilados (MACHÁCKOVÁ *et al.*, 1998).

Estes dados descritos na literatura leva a reflexão sobre o uso da análise quantitativa neste estudo, haja vista a complexidade dos fatores intervenientes dos processos fisiológicos acumulativos diferenciados por diferentes condições de crescimento.

### **5-1-2. *E. urophylla***

Os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras das quatro árvores mantiveram-se quantitativamente constantes nas três regiões da madeira (alburno, zona de transição e cerne). Os teores dos extratos de acetato de etila apresentaram o mesmo comportamento. Quanto aos teores dos extratos metanólicos, alterações foram observadas nas três regiões estudadas. (Figuras 11, 12 e 13).

Nos alburnos, os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras das árvores 1 e 2 da área I e das árvores 1 e 2 da área II revelaram que não existem diferenças significativas, pressupondo que em todas as amostras o processo fisiológico manteve quantitativamente a mesma relação, significando que os clones estudados das regiões distintas não se modificaram, mantendo suas características genéticas quanto a esse fator. Quanto aos efeitos ecofisiológicos, por se tratarem de amostras de origem ecológicas diferentes, não sofreram modificações, revelando que no alburno não houve mudança significativa, o mesmo ocorreu para os teores dos extratos de acetato de etila. Já os teores dos extratos metanólicos da mesma região apresentaram diferenças, os indivíduos 1 e 2 da área II destacaram-se dos demais, apresentando o maior e o menor teor respectivamente (Figura 11).

Os teores dos extratos da madeira da zona de transição mostraram diferenças quantitativas. Os extratos ciclohexânicos e acetato de etila foram semelhantes quantitativamente para todos os indivíduos, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos, já que o indivíduo 2 da área II diferenciou-se dos demais. Isso mostra que os

extratos polares foram mais influenciados com as diferentes condições ecológicas. (Figura 12).

Os teores dos extratos da madeira do cerne mostraram-se diferenciados quantitativamente com relação aos extratos mais polares, confirmando que o extrato polar neste caso foi o mais influenciado pelo aspecto ambiental. (Figura 13).

Essas variações podem ser explicadas enfocando-se em três fatores: fisiológicos, ecológicos e genéticos.

A idade e o desenvolvimento da planta, bem como dos diferentes órgãos vegetais, também são de considerável importância e podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura. (BOWERS *et al.*, 1993).

De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é freqüentemente afetada por condições ambientais.

O estresse hídrico, as condições de nutrição e as condições edáficas, por exemplo, comprometem o funcionamento fisiológico normal, verificado nos indivíduos.

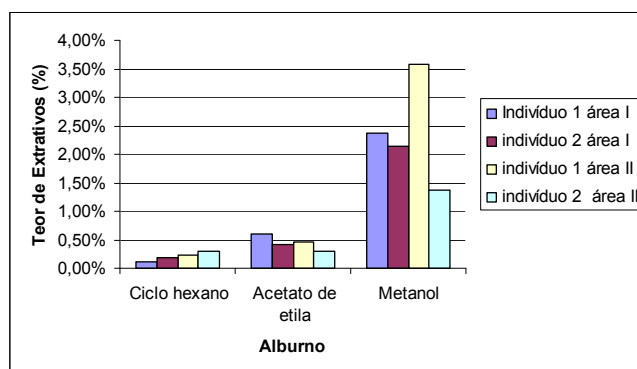
A resposta mais proeminente das plantas ao déficit hídrico, segundo McCREE & FERNÁNDEZ (1989) e TAIZ & ZEIGER (1991), consiste no decréscimo da produção da área foliar, do fechamento dos estômatos, da aceleração da senescência e da abscisão das folhas.

A disponibilidade de radiação solar é um dos fatores que mais limitam o crescimento e desenvolvimento das plantas. Toda energia necessária para a realização da fotossíntese, processo que transforma o CO<sub>2</sub> atmosférico em energia metabólica, é proveniente da radiação solar (TAIZ & ZIEGER, 2004).

Em contrapartida, altas intensidades de radiação solar absorvidas pelas plantas podem levá-las a saturação luminosa, diminuindo a eficiência no uso da radiação (JIANG *et al.*, 2004; ADAMS & ADAMS, 1992).

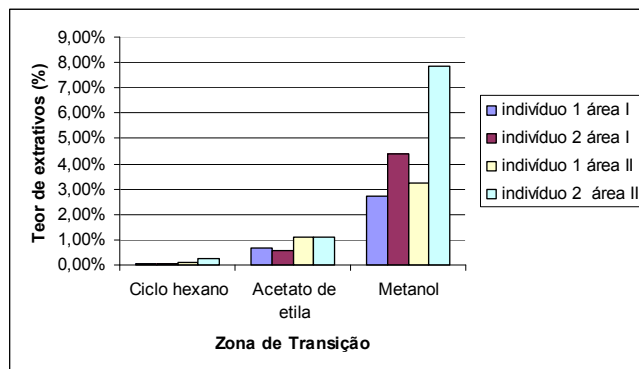
O gênero *Eucalyptus* está sujeito a uma serie de fatores ecológicos, que podem afetar o crescimento das árvores, a produção de madeira, carvão e celulose. Algumas importantes contribuições são as perturbações causadas pela ação do fogo e da chuva, gerando muitas das vezes um bolsão de material fenólico.

Estes dados descritos na literatura comprovam a complexidade do uso da análise quantitativa neste estudo, haja vista a quantidade de fatores que podem intervir nos processos fisiológicos.

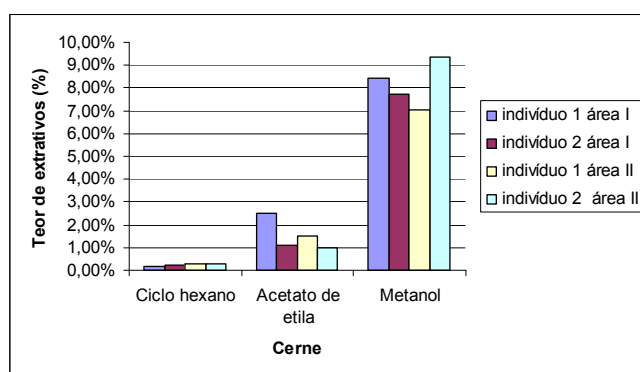


**Figura 11.** Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do **alburno** do lenho de *E. urophylla* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.





**Figura 12.** Valores em percentagens dos teores dos extratos de ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região da **zona de transição** do lenho de *E. urophylla* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

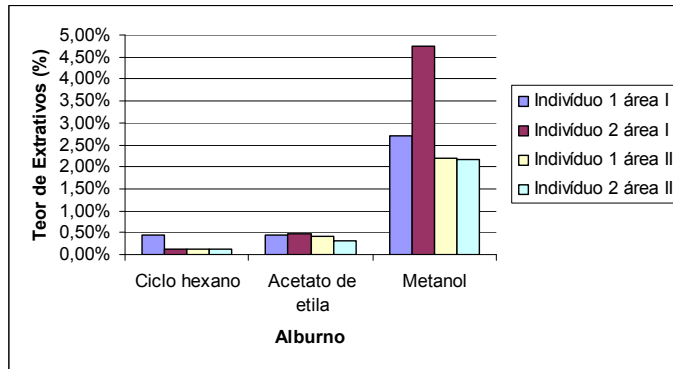


**Figura 13.** Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do **Cerne** do lenho de *E. urophylla* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

### 5-1-3. *E. urograndis*

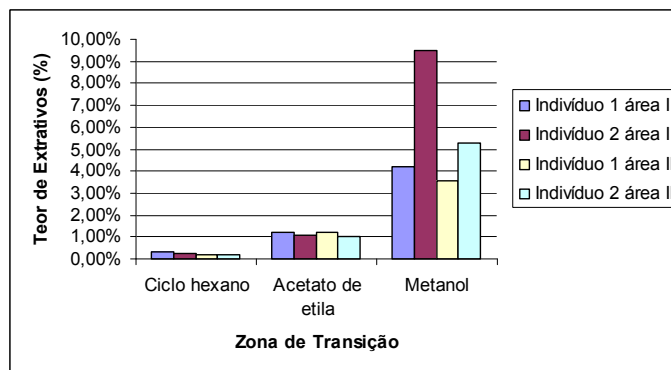
Os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras das quatro árvores apresentaram alterações na região do alburno e mantiveram-se quantitativamente constantes nas regiões da zona de transição e cerne. Os teores dos extratos de acetato de etila mantiveram-se quantitativamente constantes nas três regiões da madeira. Quanto aos teores dos extratos metanólicos, alterações foram observadas nas três regiões estudadas. (Figuras 14, 15 e 16).

Nos alburnos, os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras revelaram que o indivíduo 1 área 1 se diferenciou dos demais, apresentando o maior teor. Quanto aos teores dos extratos de acetato de etila revelaram que não existem diferenças significativas, pressupondo que em todas as amostras o processo fisiológico manteve quantitativamente a mesma relação, significando que os clones estudados das regiões distintas não se modificaram, mantendo suas características genéticas quanto a esse fator. Quanto aos teores dos extratos metanólicos, o indivíduo 2 da área I destacou-se dos demais, apresentando o maior teor (Figura 14).



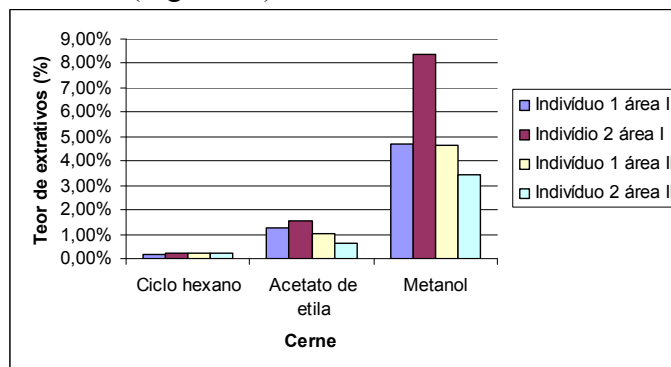
**Figura 14.** Valores em percentagens dos teores dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do **alburno** do lenho de *E. urograndis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

Os teores dos extratos da madeira da zona de transição mostraram diferenças quantitativas. Os extratos ciclohexânicos e acetato de etila foram semelhantes quantitativamente para todos os indivíduos, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos, já que o indivíduo 2 da área I se diferenciou dos demais. Isso mostra que os extratos polares foram mais influenciados com as diferentes condições ecológicas. (Figura 15).



**Figura 15.** Valores em percentagens dos teores dos extratos de ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região da **zona de transição** do lenho de *E. urograndis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

Os teores dos extratos da madeira do cerne mostraram-se diferenciados quantitativamente com relação aos extratos mais polares, confirmando que o extrato polar neste caso foi mais influenciado pelo aspecto ambiental. Observou-se que o indivíduo 2 da área I apresentou o maior teor (Figura 16).



**Figura 16.** Valores em percentagens dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do **Cerne** do lenho de *E. urograndis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

Essas variações podem ser explicadas enfocando-se em três fatores: fisiológicos, ecológicos e genéticos.

Os vegetais também utilizam vias metabólicas, produzindo substâncias que geralmente aparentam papéis importantes para sua sobrevivência e são os chamados metabólitos secundários. Muitos destes metabólitos aparecem apenas ser ativados durante estágios particulares de crescimento e desenvolvimento, ou durante períodos de estresse causados, por exemplo, por limitação nutricional ou ataques por microorganismos (MANN, 1987).

Alguns dos metabólitos secundários são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento do vegetal. Alguns exemplos são: os hormônios giberelinas e ácido abscísico; os esteróis que compõem as membranas celulares, os carotenóides que atuam como pigmentos acessórios na fotossíntese (TAIZ & ZEIGER, 2004). Em alguns casos, eles agem como co-substratos ou co-enzimas, o que dificulta uma distinção entre metabolismo primário e secundário (HADACEK, 2002).

Com o aperfeiçoamento das técnicas bioquímicas e como advento da biologia molecular, vem sendo demonstrado que os metabólitos secundários desempenham um papel importante na adaptação das plantas ao seu ambiente (BOURGAUD *et al.*, 2001).

Fatores fisiológicos críticos, tais como: fotossíntese, comportamento estomatal, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento, podem ser alterados por estresse hídrico e, conseqüentemente, levar a alterações no metabolismo secundário (SALISBURY, 1991; BAZAAZ, 1987).

A redução na atividade fotossintética pela redução na assimilação do CO<sub>2</sub> e a senescência das folhas são também indicadores do efeito do déficit hídrico de uma cultura (FAVER *et al.*, 1996).

Outros efeitos do déficit hídrico incluem a redução no desenvolvimento das células, na expansão das folhas, transpiração e redução na translocação de assimilados (HSIAO, 1973).

SIVAKUMAR & SHAW (1978) afirmaram que, em condições de déficit hídrico no solo, reduz-se a expansão das folhas, acelera a senescência, diminui o índice de área foliar e aumenta a abscisão das folhas.

BEGG & TURNER (1976) demonstraram que os efeitos causados pelo déficit hídrico nos tecidos mais jovens da planta são maiores que nos tecidos adultos; porém, quando se interrompe o déficit o desenvolvimento é recuperado somente nas folhas mais jovens.

Fatores ambientais e genéticos, operando conjuntamente por meio de processos fisiológicos, controlam o crescimento e desenvolvimento das plantas. A luz, especialmente considerando-se a duração do período luminoso ou fotoperíodo, corresponde a um dos principais aspectos da interação das plantas com seu ambiente, controlando o desenvolvimento, por influenciar processos como a floração GARNER & ALLARD (1920), germinação de sementes CLEMENTE FILHA (1996), crescimento de caules e folhas JUNTILLA *et al.* (1990), formação de órgãos de reservas FARIA (1998) e partição de assimilados (MACHÁCKOVÁ *et al.*, 1998).

Estes dados descritos na literatura leva-nos a reflexão sobre o uso de análise quantitativa neste estudo, haja vista a complexidade dos fatores intervenientes dos processos fisiológicos acumulativos diferenciados por diferentes condições de crescimento.

#### **5-1-4. Teores de Extrativos: *E. grandis* x *E. urophylla* x *E. urograndis***

Comparando os teores de extrativos na região do alburno nas duas espécies e no híbrido, verificou-se que quantitativamente os extratos ciclohexânicos e acetato de etila não sofreram alterações significativas, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos. No alburno da espécie *E. grandis* o indivíduo 1 da área I foi o que apresentou o menor teor, se destoando dos demais. Na espécie *E. urophylla* foram os indivíduos 1 e 2 da área II que se destacaram dos

demais (maior teor e menor teor respectivamente). No híbrido *E. urograndis* o indivíduo 2 da área I apresentou o maior teor em relação aos demais.

Comparando os teores de extrativos na região da zona de transição nas duas espécies e no híbrido, verificou-se que quantitativamente os extratos ciclohexânicos e acetato de etila não sofreram alterações significativas, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos. Na zona de transição da espécie *E. grandis* o indivíduo 1 da área I e o indivíduo 1 da área II se destacaram em relação aos demais. Na espécie *E. urophylla* os indivíduos se destoaram entre si e o indivíduo 2 da área II apresentou o maior teor. No híbrido *E. urograndis* os indivíduos se também se destoaram entre si e o indivíduo 2 da área I apresentou o maior teor em relação aos demais.

Comparando os teores de extrativos na região do cerne nas duas espécies e no híbrido, verificou-se que quantitativamente os extratos ciclohexânicos e acetato de etila não sofreram alterações significativas, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos. Na espécie *E. grandis* foram os indivíduos 1 e 2 da área I que se destacaram dos demais (menor teor e maior teor respectivamente). Na espécie *E. urophylla* o indivíduo 2 da área II apresentou o maior teor em relação aos demais. No híbrido *E. urograndis* o indivíduo 2 da área I apresentou o maior teor em relação aos demais.

Esses dados mostraram que em alguns exemplos bolsa de Kino estavam presentes.

“kino”, é descrito como um exsudato produzido por espécies de *Eucalyptus* em resposta a injúrias. Este material endurece após exposição ao sol e ao ar formando bolhas quebradiças de cor marrom (COSTELLO, 2008). O “kino” de eucalipto há muito tempo é utilizado na Austrália como antidiarréico, em hemorragias por suas propriedades adstringentes e como cicatrizante em problemas de pele, graças ao elevado teor de taninos e substâncias fenólicas presentes em sua composição. Dentre estas substâncias destacam-se os flavonóides: narigenina, aromadendrina e sakuranetina.

Neste caso um acúmulo desse material (Kino) coaduna com os dados descritos neste trabalho, inviabilizando considerações sobre o uso de extrativos (dados quantitativos) como ferramenta diferenciadora de táxons. (Figura 17)



**Figura 17.** Foto da madeira com bolsa de Kino.

## 5-2. RMN <sup>13</sup>C

Neste trabalho foi avaliado o perfil espectral de RMN <sup>13</sup>C dos extratos ciclohexânicos, visto que os demais extratos (acetato de etila e metanólico) apresentaram-se pouco solúveis em solventes Deuterados comuns, dificultando assim a obtenção dos espectros adequados para as respectivas atribuições. Além disso, o extrato ciclohexânico foi escolhido por outros aspectos: baixa complexidade do extrato, facilidade na obtenção dos espectros, mais solúvel em Clorofórmio Deuterado, tempo de obtenção dos espectros menor em relação aos outros extratos polares. Outra característica deve-se ao fato que entre os extratos, foi o único que

preservou quantitativamente a mesma relação, os outros extratos quantitativamente foram diferentes.

Os dados espectroscópicos de RMN  $^{13}\text{C}$  foram definidos segundo as regiões dos espectros: alifática (0 a 55 ppm), olefínicas e aromáticas (110 a 155 ppm) e carbonílicas e acílicas (155 a 220 ppm).

#### **5-2-1. *E. grandis***

As Tabelas 2, 3 e 4 apresentam o perfil espectral comum para espécie *E. grandis* de cada região da madeira (alburno, zona de transição e cerne). O alburno e o cerne foram às regiões que apresentaram as maiores faixas de deslocamento químico, enquanto a zona de transição a menor. Esse resultado é esperado tendo em vista que é na região da zona de transição que novos metabólitos são formados. Portanto, ao fazer a caracterização da madeira para a espécie *E. grandis* é recomendado que dê preferência às zonas com maiores faixas de deslocamento químico (ppm) referentes ao alburno e ao cerne, tendo assim uma maior precisão no processo de identificação.

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno mostraram que os indivíduos 1 e 2 das áreas I e II apresentaram certa similaridade. Revelando também que a qualidade das absorções de  $^{13}\text{C}$  (impressão digital do extrato ciclohexânico) compõe alta concentração na região alifática (C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>), pouca concentração de carbonos olefínicos/aromáticos e ausência de sinais de carbonos entre 80 ppm a 110 ppm. Uma relação próxima entre os deslocamentos químicos dos extratos ciclohexânicos foi encontrada, permitindo a obtenção de uma média, ficando esta como o deslocamento representativo. As madeiras dos indivíduos estudados mantiveram as mesmas características espectrais, não ocorrendo alterações quanto à origem genética e ecológica (Tabela 2) (Anexos A, B, C e D).

**Tabela 2.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do alburno para as madeiras dos clones da espécie *E. grandis*.

Alburno							
Nº do sinal	Indivíduo 1 Área I	Indivíduo 2 Área I	Indivíduo 1 Área II	Indivíduo 2 Área II	Média	Máxima	Mínima
1	11,96	11,95	11,97	11,96	11,96	11,97	11,95
2	14,10	14,04	14,09	14,04	14,07	14,10	14,04
3	19,02	19,00	19,03	19,00	19,01	19,03	19,00
4	19,80	19,80	19,80	19,80	19,80	19,80	19,80
5	21,06	21,05	21,07	21,00	21,05	21,07	21,00
6	22,67	22,67	22,67	22,67	22,67	22,67	22,67
7	23,05	23,02	23,07	23,03	23,04	23,07	23,02
8	23,73	23,70	23,74	23,71	23,72	23,74	23,70
9	24,29	24,28	24,29	24,28	24,28	24,29	24,28
10	26,07	26,02	26,09	26,02	26,05	26,09	26,02
11	27,19	27,17	27,19	27,18	27,18	27,19	27,17
12	28,24	28,23	28,23	28,23	28,23	28,24	28,23
13	30,34	30,32	30,36	30,33	30,34	30,36	30,32
14	31,91	31,89	31,91	31,89	31,90	31,91	31,89
15	33,93	33,90	33,95	33,90	33,92	33,95	33,90
16	36,14	36,12	36,14	36,12	36,13	36,14	36,12
17	37,24	37,22	37,25	37,22	37,23	37,25	37,22
18	38,14	38,13	38,16	38,13	38,14	38,16	38,13
19	38,72	38,69	38,73	38,70	38,71	38,73	38,69
20	39,72	39,73	39,77	39,70	39,73	39,77	39,70
21	42,30	42,28	42,31	42,29	42,29	42,31	42,28
22	45,82	45,79	45,84	45,80	45,81	45,84	45,79
23	56,04	56,00	56,05	56,00	56,02	56,05	56,00
24	68,15	68,14	68,15	68,14	68,14	68,15	68,14
25	73,77	73,68	73,70	73,69	73,71	73,77	73,68
26	128,84	128,78	128,80	128,78	128,80	128,84	128,78
27	130,90	130,87	130,86	130,87	130,88	130,90	130,86

As absorções de  $^{13}\text{C}$  nos espectros dos extratos ciclohexânicos da zona de transição revelaram diferenças mínimas com relação ao alburno, com grande concentração de absorções na região alifática embora em um número menor, confirmando o seu status de zona de transição entre alburno e cerne. A zona de transição representa uma região de grande atividade bioquímica (transformação de substâncias de reserva para constituintes especiais do cerne) (Tabela 3) (Anexos E, F, G e H).

**Tabela 3.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras dos clones da espécie *E.grandis*.

<b>Zona de transição</b>							
<b>Nº do sinal</b>	<b>Indivíduo 1 Área 1</b>	<b>Indivíduo 2 Área 1</b>	<b>Indivíduo 1 Área 2</b>	<b>Indivíduo 2 Área 2</b>	<b>Média</b>	<b>Máxima</b>	<b>Mínima</b>
1	11,95	11,94	11,91	11,96	11,94	11,96	11,91
2	14,11	14,09	14,08	14,11	14,10	14,11	14,08
3	18,74	18,74	18,71	18,76	18,74	18,76	18,71
4	19,29	19,36	19,23	19,38	19,32	19,38	19,23
5	19,80	19,79	19,77	19,81	19,79	19,81	19,77
6	21,03	21,05	21,00	21,06	21,04	21,06	21,00
7	22,67	22,66	22,64	22,68	22,67	22,68	22,64
8	24,27	24,27	24,25	24,28	24,27	24,28	24,25
9	25,60	25,59	25,57	25,61	25,59	25,61	25,57
10	27,17	27,16	27,14	27,18	27,16	27,18	27,14
11	31,56	31,57	31,47	31,51	31,53	31,57	31,47
12	36,11	36,12	36,09	36,13	36,11	36,13	36,09
13	42,26	42,27	42,25	42,25	42,26	42,27	42,25
14	45,77	45,78	45,74	45,80	45,77	45,80	45,74
15	55,98	56,00	55,96	55,91	55,96	56,00	55,98
16	56,71	56,72	56,62	56,66	56,68	56,74	56,62
17	127,87	127,87	127,85	127,89	127,87	127,89	127,85
18	130,87	130,86	130,89	130,87	130,87	130,89	130,86

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da madeira do cerne foram considerados os mais representativos para o estudo de identificação de clones de *E. grandis*, primeiro pelo número de absorções de  $^{13}\text{C}$  existentes, significando uma variedade de carbonos em termos de constituintes químicos, além da presença relevante de carbonos olefínicos/aromáticos na faixa entre 110 e 155 ppm (Tabela 4) (Anexos I, J, L e M).

**Tabela 4.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones da espécie *E. grandis*.

Cerne							
Nº do sinal	Indivíduo 1 Área 1	Indivíduo 2 Área 1	Indivíduo 1 Área 2	Indivíduo 2 Área 2	Média	Máxima	Mínima
1	11,84	11,80	11,83	11,81	11,82	11,84	11,80
2	11,96	11,93	11,95	11,94	11,94	11,96	11,93
3	14,13	14,08	14,09	14,09	14,10	14,13	14,08
4	18,76	18,73	18,75	18,74	18,74	18,76	18,73
5	19,00	18,98	19,01	18,99	18,99	19,98	19,00
6	19,38	19,34	19,37	19,36	19,36	19,38	19,34
7	19,81	19,78	19,79	19,78	19,79	19,81	19,78
8	21,05	21,02	21,06	21,03	21,04	21,06	21,02
9	22,69	22,65	22,68	22,66	22,67	22,69	22,65
10	23,02	23,00	23,04	23,00	23,01	23,04	23,00
11	24,28	24,25	24,28	24,26	24,27	24,28	24,25
12	24,70	24,69	24,70	24,68	24,69	25,68	24,70
13	25,99	25,58	26,03	25,98	25,90	26,03	25,98
14	27,18	27,15	27,17	27,16	27,17	27,18	27,15
15	28,24	28,20	28,23	28,21	28,22	28,24	28,20
16	30,34	30,30	30,33	30,31	30,32	30,32	30,30
17	31,56	31,49	31,57	31,54	31,54	31,57	31,49
18	31,91	31,87	31,90	31,89	31,89	31,91	31,87
19	33,88	33,86	33,91	33,87	33,88	33,91	33,86
20	36,13	36,10	36,12	36,11	36,12	36,13	36,10
21	38,13	38,09	38,12	38,10	38,11	38,13	38,09
22	39,73	39,71	39,74	39,72	39,72	39,74	39,71
23	42,28	42,26	42,29	42,26	42,27	42,29	42,26
24	45,76	45,76	45,80	45,77	45,77	45,80	45,76
25	50,06	50,06	50,10	50,07	50,07	50,10	50,06
26	55,98	55,98	56,02	55,99	55,99	56,02	55,98
27	56,70	56,70	56,74	56,71	56,71	56,74	56,70
28	71,81	71,80	71,83	71,81	71,81	71,83	71,80
29	109,25	109,28	109,29	109,28	109,27	109,29	109,25
30	114,67	114,70	114,69	114,69	114,69	114,70	114,67
31	115,55	115,55	115,57	115,57	115,56	115,57	115,55
32	121,72	121,71	121,71	121,71	121,71	121,72	121,71
33	122,55	122,58	122,57	122,58	122,57	122,58	122,55
34	123,02	123,01	123,03	123,03	123,02	123,03	123,01
35	127,87	127,86	127,88	127,88	127,87	127,88	127,86
36	128,79	128,76	128,78	128,78	128,78	128,79	128,76
37	130,87	130,87	130,87	130,88	130,87	130,88	130,87
38	140,66	140,66	140,68	140,67	140,67	140,68	140,66

Nem todos os indivíduos apresentaram sinais característicos de presença de carbonos de carbonila/acila (155 a 220 ppm), tais sinais foram identificados apenas nos espectros da zona de transição (Indivíduo 1, área I); da zona de transição e do cerne (Indivíduo 2, área I);



do alburno, da zona de transição e do cerne (Indivíduo 2, área II), sendo assim, estes não foram usados como sinais de informação identificadora.

Valores discrepantes de deslocamentos químicos foram encontrados entre os espectros dos extratos ciclohexânicos dos indivíduos nas regiões (alburno, zona de transição e cerne), essas diferenças podem estar relacionadas às baixas concentrações de alguns extratos, ao tempo de aquisição dos espectros, aos fatores genéticos e/ou aos fatores ambientais.

Por se tratarem de indivíduos geneticamente idênticos (clones) essas diferenças foram desprezadas como ferramenta de identificação para espécie.

### **5-2-2. *E. urophylla***

As Tabelas 5, 6 e 7 apresentam o perfil espectral comum de cada região da madeira (alburno, zona de transição e cerne) para espécie *E. urophylla*. Uma relação próxima entre os deslocamentos químicos dos extratos ciclohexânicos foi encontrada, permitindo a obtenção de valores médios, ficando estes como os deslocamentos representativos para definir a espécie.

O alburno e o cerne foram às regiões que apresentaram as maiores faixas de deslocamentos químicos, enquanto a zona de transição a menor. Esse resultado coaduna com a hipótese que na zona de transição são formados metabólitos que se acumulam no cerne.

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno mostraram que os indivíduos 1 e 2 das áreas I e II apresentaram similaridade. Revelando também que as absorções de  $^{13}\text{C}$  (impressão digital do extrato ciclohexânico) compõe alta concentração na região alifática (C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>), pouca concentração de carbonos olefínicos/aromáticos, e ausência de sinais de carbonos entre 80 ppm a 110 ppm. As madeiras dos indivíduos estudados mantiveram na maioria as mesmas características espectrais, não ocorrendo alteração quanto à origem genética e ecológica (Tabela 5) (Anexos N, O, P e Q).

**Tabela 5.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do alburno para as madeiras dos clones da espécie *E. urophylla*.

Alburno							
Nº do sinal	Indivíduo 1 Área I	Indivíduo 2 Área I	Indivíduo 1 Área II	Indivíduo 2 Área II	Média	Máxima	Mínima
1	11,83	11,83	11,83	11,83	11,83	11,83	11,83
2	11,96	11,95	11,96	11,95	11,96	11,96	11,95
3	14,12	14,04	14,09	14,11	14,09	14,12	14,04
4	18,75	18,75	18,76	18,75	18,75	18,76	18,75
5	19,00	19,00	19,02	19,00	19,00	19,00	19,02
6	19,31	19,31	19,29	19,30	19,30	19,31	19,29
7	19,81	19,80	19,79	19,80	19,80	19,81	19,79
8	21,00	21,05	21,01	21,00	21,01	21,05	21,00
9	22,68	22,68	22,67	22,67	22,67	22,68	22,67
10	23,02	23,03	23,06	23,02	23,03	23,06	23,02
11	23,70	23,71	23,74	23,70	23,71	23,74	23,70
12	24,28	24,28	24,28	24,27	24,27	24,28	24,27
13	25,03	25,02	25,03	25,02	25,02	25,03	25,02
14	25,61	25,61	25,61	25,60	25,61	25,61	25,60
15	25,99	26,02	26,08	26,02	26,03	26,08	25,99
16	27,18	27,17	27,18	27,17	27,17	27,18	27,17
17	27,78	27,79	27,80	27,78	27,78	27,80	27,78
18	28,23	28,23	28,22	28,23	28,23	28,23	28,22
19	28,89	28,90	28,91	28,90	28,90	28,91	28,89
20	30,32	30,33	30,34	30,33	30,33	30,34	30,32
21	34,70	34,69	34,69	34,69	34,69	34,70	34,69
22	36,13	36,12	36,13	36,12	36,13	36,12	36,13
23	36,56	36,57	36,59	36,57	36,57	36,59	36,56
24	36,96	36,97	36,98	36,97	36,97	36,98	36,96
25	37,21	37,22	37,24	37,22	37,22	37,24	37,21
26	38,12	38,13	38,14	38,12	38,13	38,14	38,12
27	68,13	68,14	68,15	68,14	68,14	68,15	68,13
28	121,72	121,72	121,70	121,72	121,72	121,72	121,70
29	122,58	122,59	122,56	122,58	122,58	122,59	122,56
30	128,79	128,78	128,78	128,78	128,78	128,79	128,78
31	130,90	130,87	130,85	130,87	130,87	130,90	130,85

As absorções de  $^{13}\text{C}$  nos espectros dos extratos ciclohexânicos da zona de transição revelaram diferenças mínimas com relação ao alburno, com grande concentração de absorções na região alifática embora em um número menor, confirmando o seu status de transição entre alburno e cerne (Tabela 6) (Anexos R, S, T e U).

**Tabela 6.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras dos clones da espécie *E. urophylla*.

<b>Zona de transição</b>							
<b>Nº do sinal</b>	<b>Indivíduo 1 Área 1</b>	<b>Indivíduo 2 Área 1</b>	<b>Indivíduo 1 Área 2</b>	<b>Indivíduo 2 Área 2</b>	<b>Média</b>	<b>Máxima</b>	<b>Mínima</b>
1	11,96	11,96	11,95	11,94	11,95	11,96	11,94
2	14,12	14,11	14,13	14,10	14,11	14,12	14,10
3	18,75	18,75	18,74	18,74	18,75	18,75	18,74
4	19,81	19,81	19,79	19,79	19,80	19,81	19,79
5	22,68	22,68	22,67	22,66	22,67	22,68	22,66
6	23,00	23,02	23,02	23,02	23,02	23,02	23,00
7	23,70	23,07	23,70	23,70	23,70	23,70	23,70
8	25,60	25,60	25,59	25,99	25,70	25,59	25,55
9	27,17	27,18	27,17	27,18	27,17	27,18	27,17
10	31,50	31,51	31,59	31,52	31,53	31,59	31,50
11	33,89	33,90	33,90	33,89	33,89	33,90	33,89
12	34,69	34,69	34,69	34,66	34,68	34,66	34,69
13	36,12	36,13	36,12	36,12	36,12	36,13	36,12
14	38,11	38,13	38,12	38,11	38,14	38,13	38,11
15	38,67	38,69	38,69	38,67	38,68	38,69	38,67
16	42,22	42,28	42,28	42,27	42,26	42,28	42,22
17	45,78	45,79	45,79	45,77	45,78	45,79	45,77
18	50,08	50,09	50,09	50,08	50,08	50,09	50,08
19	68,14	68,13	68,14	68,13	68,13	68,14	68,13
20	122,58	122,59	122,57	122,57	122,58	122,59	122,57
21	127,87	127,89	127,88	127,88	127,88	127,89	127,87
22	128,77	128,79	128,81	128,77	128,79	128,81	128,77
23	130,88	130,88	130,90	130,87	130,88	130,90	130,87

Os espectros dos extratos ciclohexânicos provenientes da madeira da região do cerne foram considerados os mais representativos como parâmetro de identificação de clones de *E. urophylla*, primeiro pelo número de absorções de  $^{13}\text{C}$  existentes, significando uma variedade de carbonos em termos de constituintes químicos, além da presença relevante de carbonos olefínicos/aromáticos entre 110 e 155 ppm (Tabela 7) (Anexos V, X, Z, A 1).

**Tabela 7.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones da espécie *E. urophylla*.

<b>Cerne</b>							
<b>Nº do sinal</b>	<b>Indivíduo 1 Área 1</b>	<b>Indivíduo 2 Área 1</b>	<b>Indivíduo 1 Área 2</b>	<b>Indivíduo 2 Área 2</b>	<b>Média</b>	<b>Máxima</b>	<b>Mínima</b>
1	11,83	11,83	11,82	11,80	11,82	11,83	11,80
2	11,95	11,95	11,95	11,93	11,94	11,95	11,93
3	14,09	14,11	14,10	14,08	14,10	14,11	14,08
4	15,13	15,19	15,14	15,11	15,14	15,19	15,11
5	18,75	18,75	18,74	18,72	18,74	18,75	18,72
6	19,00	18,99	18,99	18,98	18,99	19,00	18,98
7	19,79	19,80	19,80	19,78	19,79	19,80	19,78
8	22,67	22,68	22,67	22,65	22,67	22,68	22,65
9	23,03	23,02	23,00	22,99	23,01	23,03	22,99
10	23,71	23,70	23,69	23,67	23,69	23,71	23,67
11	24,28	24,28	24,26	24,25	24,26	24,28	24,25
12	24,70	24,70	24,28	24,69	24,69	24,70	24,68
13	26,03	26,00	25,98	25,97	25,99	26,03	25,97
14	27,17	27,17	27,16	27,14	27,16	27,17	27,14
15	27,98	28,08	27,93	27,93	27,98	28,08	27,93
16	28,22	28,23	28,22	28,20	28,21	28,23	28,20
17	28,75	28,74	28,73	28,72	28,73	28,75	28,72
18	30,33	30,32	30,30	30,30	30,31	30,33	30,30
19	31,90	31,90	31,89	31,87	31,89	31,90	31,87
20	34,78	34,72	34,76	34,75	34,75	34,78	34,72
21	36,12	36,12	36,11	36,09	36,11	36,12	36,09
22	38,70	38,68	38,66	38,66	38,67	38,70	38,66
23	39,74	39,68	39,71	39,66	39,70	39,74	39,66
24	42,29	42,28	42,26	42,25	42,27	42,29	42,25
25	45,80	45,78	45,77	45,76	45,78	45,80	45,76
26	68,14	68,13	68,12	68,11	68,12	68,14	68,11
27	109,27	109,25	109,23	109,27	109,24	109,27	109,23
28	114,69	114,68	114,67	114,70	114,69	114,70	114,67
29	123,02	123,03	123,02	123,00	123,02	123,03	123,00
30	128,78	128,78	128,77	128,76	128,77	128,78	128,76
31	130,03	130,05	130,03	130,00	130,03	130,05	130,00
32	130,86	130,87	130,87	130,85	130,86	130,87	130,85

Nem todos os indivíduos apresentaram sinais característicos de presença de carbonos de carbonila/acila (155 a 220 ppm), tais sinais foram identificados apenas nos espectros do alburno, da zona de transição e do cerne (Indivíduo 1, área I); da zona de transição (Indivíduo 2, área I); da zona de transição (Indivíduo 1, área II) e da zona de transição e do cerne (Indivíduo 2, área II), sendo assim, estes não foram usados como sinais de informação identificadora.

Valores discrepantes de deslocamentos químicos foram encontrados entre os espectros dos extratos ciclohexânicos das madeiras das regiões (alburno, zona de transição e cerne). Essas diferenças podem estar relacionadas às baixas concentrações de alguns extratos, ao tempo de aquisição dos espectros, fatores genéticos e fatores ambientais. Por se tratar de um

estudo com clones, indivíduos geneticamente idênticos, as diferenças observadas foram desprezadas.

### 5-2-3. *E. urograndis*

As Tabelas 8, 9 e 10 apresentam o perfil espectral comum de cada região da madeira (alburno, zona de transição e cerne) para o híbrido *E. urograndis*. Uma relação próxima entre os deslocamentos químicos dos extratos ciclohexânicos foi encontrada, permitindo a obtenção de valores médios, ficando estes como os deslocamentos representativos.

A zona de transição e o cerne foram às regiões que apresentaram as maiores faixas de deslocamentos químicos, enquanto o alburno a menor.

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno mostraram que os indivíduos 1 e 2 das áreas I e II apresentaram similaridade, revelando também que as absorções de  $^{13}\text{C}$  (impressão digital do extrato ciclohexânico) compõe alta concentração na região alifática (C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>), um sinal de carbono olefínico/aromático e ausência de sinais de carbonos entre 80 ppm a 110 ppm. As madeiras dos indivíduos estudados mantiveram na maioria as mesmas características espectrais, não ocorrendo alteração quanto à origem genética e ecológica (Tabela 8) (Anexos B 1, C 1, D 1 e E 1).

**Tabela 8.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do alburno para as madeiras dos clones de *E. urograndis*.

Nº do sinal	Alburno				Média	Máxima	Mínima
	Indivíduo 1 Área I	Indivíduo 2 Área I	Indivíduo 1 Área II	Indivíduo 2 Área II			
1	11,85	11,83	11,83	11,83	11,83	11,85	11,83
2	11,97	11,95	11,96	11,95	11,96	11,97	11,95
3	14,10	14,10	14,12	14,10	14,11	14,12	14,10
4	18,77	18,74	18,75	18,75	18,75	18,77	18,74
5	19,02	19,00	19,00	19,00	19,00	19,02	19,00
6	19,81	19,79	19,81	19,79	19,80	19,81	19,79
7	21,01	21,00	21,00	21,00	21,00	21,01	21,00
8	22,67	22,67	22,68	22,67	22,68	22,68	22,67
9	23,05	23,02	23,01	23,02	23,03	23,05	23,01
10	23,74	23,71	23,70	23,70	23,71	23,74	23,70
11	24,29	24,27	24,28	24,27	24,28	24,29	24,27
12	25,61	25,60	25,61	25,60	25,61	25,61	25,60
13	26,06	26,02	25,99	26,02	26,02	26,06	25,99
14	27,19	27,17	27,18	27,17	27,18	27,19	27,17
15	28,23	28,23	28,23	28,23	28,23	28,23	28,23
16	31,92	31,90	31,91	31,88	31,90	31,92	31,88
17	33,93	33,90	33,89	33,90	33,91	33,93	33,89
18	36,14	36,12	36,12	36,12	36,13	36,14	36,12
19	37,24	37,22	37,21	37,22	37,20	37,24	37,20
20	42,30	42,29	42,28	42,29	42,29	42,30	42,29
21	45,82	45,80	45,78	45,79	45,80	45,83	45,79
22	50,01	49,99	49,97	49,99	49,99	50,01	49,98
23	56,02	56,01	55,99	56,00	56,01	56,02	56,00
24	68,14	68,14	68,14	68,14	68,14	68,15	68,14
25	122,57	122,58	122,58	122,59	122,58	122,59	122,58

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição mostraram que os indivíduos 1 e 2 das áreas I e II apresentaram similaridade, revelando também que as absorções de  $^{13}\text{C}$  (impressão digital do extrato ciclohexânico) compõe alta concentração na região alifática (C, CH,  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ ), alguns sinais de carbonos olefinicos/aromáticos e apenas um sinal de carbono entre 80 ppm a 110 ppm. As madeiras dos indivíduos estudados mantiveram na maioria as mesmas características espectrais, não ocorrendo alteração quanto à origem genética e ecológica (Tabela 9) (Anexos F 1, G 1, H 1, I 1).

**Tabela 9.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras dos clones de *E. urograndis*.

<b>Zona de transição</b>							
<b>Nº do sinal</b>	<b>Indivíduo 1 Área 1</b>	<b>Indivíduo 2 Área 1</b>	<b>Indivíduo 1 Área 2</b>	<b>Indivíduo 2 Área 2</b>	<b>Média</b>	<b>Máxima</b>	<b>Mínima</b>
1	11,83	11,83	11,83	11,81	11,83	11,83	11,81
2	11,95	11,96	11,95	11,94	11,95	11,96	11,94
3	14,11	14,10	14,12	14,09	14,11	14,12	14,09
4	15,14	15,14	15,15	15,13	15,14	15,15	15,13
5	18,74	18,75	18,75	18,74	18,75	18,75	18,74
6	18,99	19,00	19,00	18,99	18,99	19,00	18,99
7	19,80	19,80	19,81	19,79	19,80	19,81	19,79
8	22,56	22,55	22,57	22,55	22,60	22,60	22,55
9	22,67	22,67	22,67	22,66	22,67	22,67	22,66
10	23,01	23,02	23,01	23,01	23,01	23,02	23,01
11	24,69	24,71	24,70	24,69	24,70	24,71	24,69
12	25,12	25,13	25,13	25,11	25,12	25,13	25,11
13	25,60	25,60	25,60	25,59	25,60	25,60	25,59
14	25,98	26,02	25,99	25,99	25,99	26,02	25,98
15	27,17	27,18	27,18	27,17	27,17	27,18	27,17
16	27,78	27,79	27,78	27,77	27,79	27,79	27,77
17	28,23	28,23	28,23	28,22	28,22	28,23	28,22
18	31,50	31,50	31,57	31,49	31,52	31,57	31,49
19	31,88	31,90	31,91	31,89	31,90	31,91	31,88
20	33,88	33,90	33,90	33,87	33,89	33,90	33,87
21	34,66	34,68	34,66	34,68	34,67	34,68	34,66
22	36,12	36,12	36,13	36,11	36,12	36,13	36,11
23	36,57	36,57	36,58	36,57	36,57	36,58	36,57
24	37,21	37,22	37,22	37,21	37,21	37,22	37,21
25	38,12	38,12	38,12	38,12	38,12	38,12	38,12
26	39,68	39,73	39,73	39,72	39,72	39,73	39,68
27	42,28	42,29	42,28	42,27	42,28	42,29	42,27
28	43,32	43,33	43,33	43,32	43,33	43,33	43,32
29	45,77	45,79	45,78	45,78	45,78	45,79	45,77
30	54,85	54,87	54,86	54,85	54,86	54,87	54,85
31	55,98	56,00	55,99	55,99	55,99	56,00	55,98
32	56,15	56,16	56,15	56,15	56,15	56,16	56,15
33	102,72	102,76	102,72	102,73	102,73	102,76	102,72
34	117,22	117,23	117,29	117,21	117,24	117,29	117,21
35	121,72	121,71	121,71	121,70	121,71	121,72	121,70
36	122,58	122,56	122,57	122,57	122,58	122,58	122,56
37	127,88	127,88	127,87	127,88	127,88	127,88	127,87
38	130,04	130,04	130,04	130,03	130,04	130,04	130,03
39	130,19	130,19	130,19	130,18	130,19	130,19	130,18
40	130,88	130,87	130,88	130,86	130,87	130,88	130,86
41	140,69	140,70	140,69	140,69	140,69	140,70	140,69
42	153,41	153,41	153,41	153,40	153,41	153,41	153,40

Os espectros dos extratos ciclohexânicos provenientes da madeira da região do cerne foram considerados os mais representativos como parâmetro para possível estudo de identificação de clones de *E. urograndis* devido ao número de absorções de  $^{13}\text{C}$  existentes, significando uma variedade de carbonos em termos de constituintes químicos. Foram encontrados carbonos olefínicos/aromáticos na faixa entre 110 e 155 ppm além da presença de carbono de carbonila/acila na faixa entre 155 a 220 ppm (Tabela 10) (J 1, L 1, M 1, N 1).



**Tabela 10.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones de *E. urograndis*.

Cerne							
Nº do sinal	Indivíduo 1 Área 1	Indivíduo 2 Área 1	Indivíduo 1 Área 2	Indivíduo 2 Área 2	Média	Máxima	Mínima
1	11,82	11,81	11,82	11,82	11,82	11,82	11,81
2	11,94	11,93	11,95	11,94	11,94	11,95	11,93
3	14,09	14,09	14,10	14,10	14,10	14,10	14,09
4	18,74	18,73	18,74	18,74	18,74	18,74	18,73
5	19,36	19,35	19,36	19,36	19,36	19,36	19,35
6	19,79	19,78	19,80	19,79	19,79	19,80	19,78
7	21,05	21,03	21,03	21,04	21,04	21,05	21,03
8	22,66	22,66	22,67	22,66	22,66	22,67	22,66
9	23,03	23,00	23,00	23,02	23,01	23,03	23,00
10	24,27	24,25	24,26	24,27	24,26	24,27	24,25
11	24,69	24,69	24,69	24,70	24,69	24,70	24,69
12	24,85	24,85	24,86	24,87	24,86	24,87	24,85
13	26,03	25,98	25,98	25,99	25,99	26,03	25,98
14	27,16	27,15	27,15	27,16	27,16	27,16	27,15
15	28,22	28,21	28,22	28,22	28,22	28,22	28,21
16	31,57	31,53	31,57	31,54	31,55	31,57	31,53
17	31,88	31,87	31,85	31,89	31,87	31,89	31,85
18	33,81	33,87	33,88	33,88	33,86	33,88	33,81
19	34,67	34,64	34,65	34,66	34,65	34,67	34,64
20	36,12	36,10	36,11	36,12	36,11	36,12	36,10
21	37,22	37,19	37,20	37,20	37,20	37,22	37,19
22	38,69	38,66	38,67	38,67	38,67	38,69	38,66
23	42,29	42,26	42,27	42,26	42,27	42,29	42,26
24	45,80	45,76	45,77	45,77	45,77	45,80	45,76
25	50,09	50,06	50,06	50,07	50,07	50,09	50,06
26	56,01	55,98	55,99	55,99	55,99	56,01	55,98
27	56,16	56,13	56,14	56,14	56,14	56,16	56,13
28	56,73	56,70	56,71	56,71	56,71	56,73	56,70
29	68,14	68,12	68,12	68,13	68,13	68,14	68,12
30	102,78	102,71	102,71	102,73	102,73	102,78	102,71
31	115,57	115,55	115,58	115,56	115,56	115,58	115,55
32	121,71	121,69	121,71	121,71	121,71	121,71	121,69
33	123,02	123,01	123,03	123,03	123,02	123,03	123,01
34	128,78	128,76	128,77	128,78	128,77	128,78	128,76
35	130,03	130,02	130,03	130,03	130,03	130,03	130,02
36	130,86	130,86	130,87	130,88	130,87	130,88	130,86
37	140,68	140,67	140,69	140,68	140,68	140,69	140,67
38	173,74	173,75	173,74	173,76	173,75	173,76	173,74

Valores discrepantes de deslocamentos químicos foram encontrados entre os espectros dos extratos ciclohexânicos das madeiras das regiões (alburno, zona de transição e cerne). Essas diferenças podem estar relacionadas às baixas concentrações de alguns extratos, ao tempo de aquisição dos espectros, fatores genéticos e fatores ambientais. Por se tratar de um

estudo com clones, indivíduos geneticamente idênticos, as diferenças observadas foram desprezadas.

#### 5-2-4. RMN <sup>13</sup>C de *E. grandis* x *E. urophylla* x *E. urograndis*

Os espectros dos extratos ciclohexânicos do cerne foram os mais representativos para o estudo de identificação de madeiras, devido ao número de sinais existentes em relação às regiões dos espectros: alifática (0 a 55 ppm), olefínicas e aromáticas (110 a 155 ppm) e carbonílicas e acílicas (155 a 220 ppm). (Tabela 11) (Anexos O 1, P 1 e Q 1).

Baseado nos dados coletivos dos espectros dos extratos ciclohexânicos do cerne de todos os clones estudados, verificou-se que os sinais: (11,82; 11,94; 14,10; 18,74; 19,79; 22,67; 23,01; 24,26; 24,69; 25,99; 27,16; 28,22; 31,89; 36,11; 42,27; 45,77; 123,02; 128,77; 130,87) apareceram em todos os espectros, revelando a identidade espectral do gênero. (Tabela 11) (Anexos O 1, P 1 e Q 1).

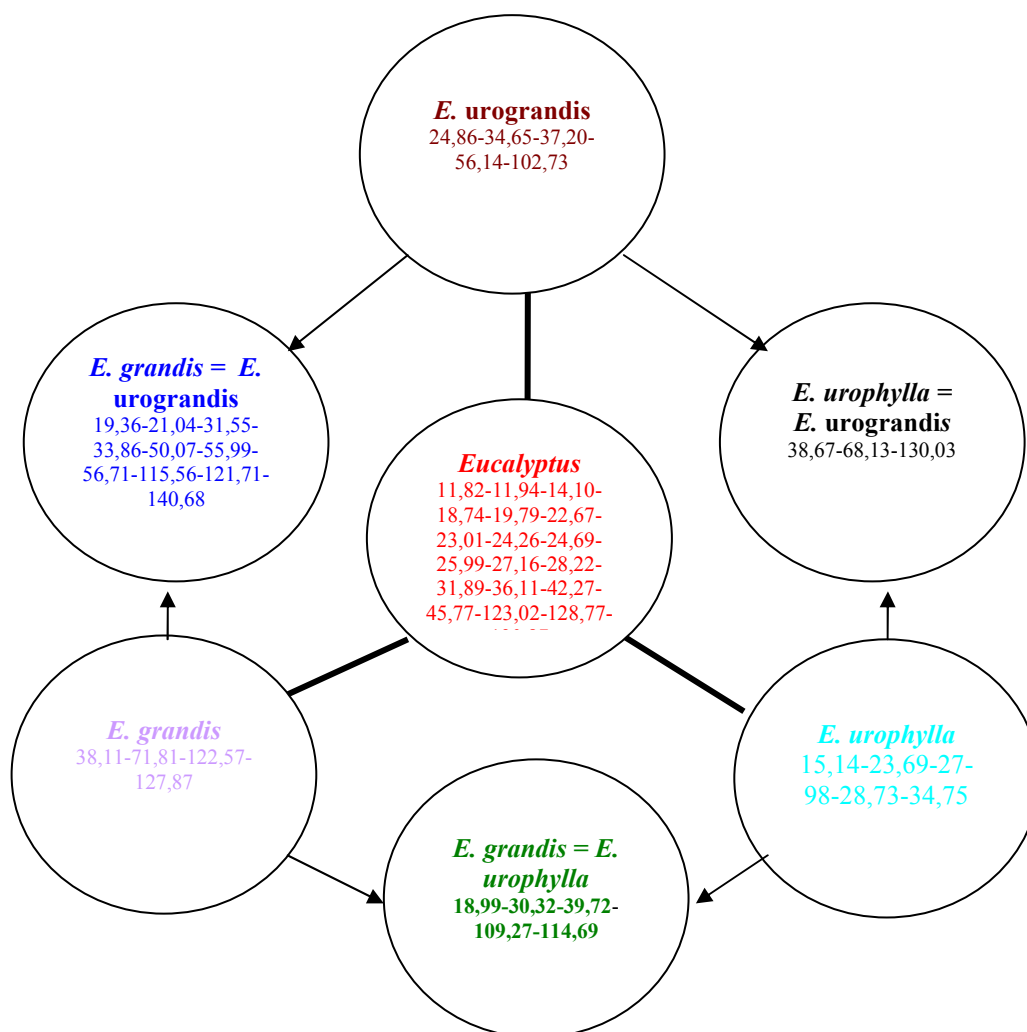
As espécies *E. grandis*, *E. urophylla* e o híbrido *E. urograndis*, apresentaram perfis espectrais diferentes, caracterizando assim sinais específicos para cada clone estudado. Os sinais: *E. grandis* (38,11; 71,81; 122,57; 127,87), *E. urophylla* (15,14; 23,69; 27,98; 28,73; 34,75) e *E. urograndis* (24,86; 34,65; 37,20; 56,14; 102,73; 173,75), foram considerados sinais de carbonos marcadores das espécies e do híbrido para fins sistemáticos de identificação (Tabela 11) (Anexos O 1, P 1 e Q 1).

No caso do *E. urograndis* que se trata de um híbrido, sinais semelhantes entre a espécie *E. grandis* (19,36; 21,04; 31,55; 33,86; 50,07; 55,99; 56,71; 115,56; 121,71; 140,68) e sinais semelhantes entre a espécie *E. urophylla* (38,67; 68,13; 130,03), foram encontrados, os que caracterizam como carbonos da mistura (*E. grandis* + *E. urophylla*). Como o objetivo básico do melhoramento de plantas baseia-se no cruzamento entre duas variedades, de maneira a promover uma recombinação de caracteres (hibridação), com a finalidade de aumentar a variabilidade gênica (SANTOS, 2005), pode-se perceber através do número de sinais que a espécie *E. grandis* apresenta uma maior representatividade em relação à espécie *E. urophylla* durante a hibridação. Esse efeito pode estar correlacionado com a herança materna ou uma dominância, podendo o híbrido ser chamado de “*E. grandisuro*”.

**Tabela 11.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras dos clones de *E. grandis*, *E. urophylla* e do híbrido *E. urograndis*. (Anexos O 1, P 1 e Q 1).

Cerne				
Nº do sinal nos espectros	<i>E. grandis</i>	<i>E. urophylla</i>	<i>E. urograndis</i>	Cores que representam cada espécie
1	11,82♦	11,82♦	11,82♦	
2	11,94♦	11,94♦	11,94♦	
3	14,10♦	14,10♦	14,10♦	Vermelho→ gênero <i>Eucalyptus</i> (19)♦
4	18,74♦	15,14Δ	18,74♦	
5	18,99♠	18,74♦	19,36*	
6	19,36*	18,99♠	19,79♦	Verde→ <i>E. grandis</i> = <i>E. urophylla</i> (5)♠
7	19,79♦	19,79♦	21,04*	
8	21,04*	22,67♦	22,66♦	Azul→ <i>E. grandis</i> = <i>E. urograndis</i> (10)*
9	22,67♦	23,01♦	23,01♦	
10	23,01♦	23,69Δ	24,26♦	
11	24,27♦	24,26♦	24,69♦	Lilás→ <i>E. grandis</i> (4)▶
12	24,69♦	24,69♦	24,86♣	
13	25,90♦	25,99♦	25,99♦	
14	27,17♦	27,16♦	27,16♦	Verde→ <i>E. urophylla</i> (5)Δ
15	28,22♦	27,98Δ	28,22♦	
16	30,32♠	28,21♦	31,55*	
17	31,54*	28,73	31,87♦	Preto→ <i>E. urophylla</i> = <i>E. urograndis</i> (3)■
18	31,89♦	30,31♠	33,86*	
19	33,88*	31,89♦	34,65♣	
20	36,12♦	34,75Δ	36,11♦	Marron→ <i>E. urograndis</i> (5)♣
21	38,11▶	36,11♦	37,20♣	
22	39,72♠	38,67■	38,67■	
23	42,27♦	39,70♠	42,27♦	
24	45,77♦	42,27♦	45,77♦	
25	50,07*	45,78♦	50,07*	
26	55,99*	68,12■	55,99*	
27	56,71*	109,24♠	56,14♣	
28	71,81▶	114,69♠	56,71*	
29	109,27♠	123,02♦	68,13■	
30	114,69♠	128,77♦	102,73♣	
31	115,56*	130,03■	115,56*	
32	121,71*	130,86♦	121,71*	
33	122,57▶		123,02♦	
34	123,02♦		128,77♦	
35	127,87▶		130,03■	
36	128,78♦		130,87♦	
37	130,87♦		140,68*	
38	140,67*		173,75♣	

As análises permitiram agregar esses valores de modo a identificá-los como característicos das espécies, do híbrido e do gênero (Figura 18). A parte central corresponde aos deslocamentos químicos (carbonos) do gênero e as ramificações os deslocamentos encontrados para as espécies e para o híbrido.



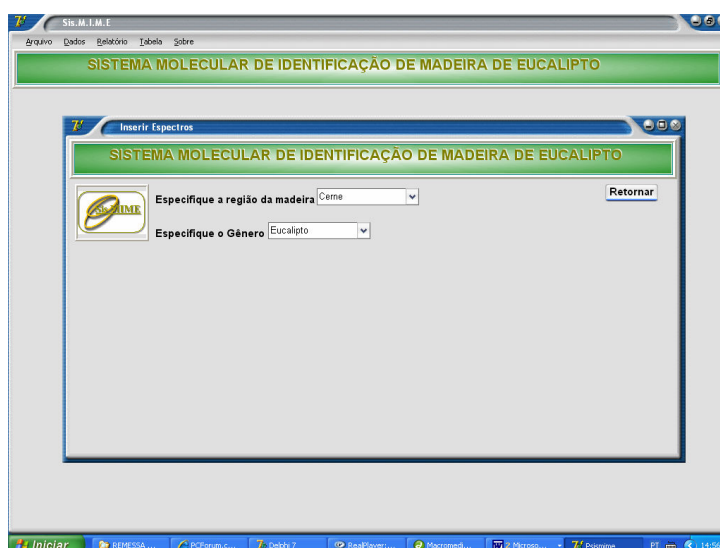
**Figura 18.** Deslocamento químico em ppm dos extratos ciclohexânicos de *Eucalyptus*, *E. grandis*, *E. urophylla* e do híbrido *E. urograndis*.

Então a partir desses dados configura-se um perfil para cada clone estudado sendo possível identificar átomos de carbonos que só aparecem em algumas espécies e no híbrido. Todo esse trabalho conduz a possibilidade de mais estudos com mais exemplos (espécies) e tornar possível um sistema de identificação (SisMIME) que poderá funcionar como ferramenta adicional para a identificação de madeiras de forma precisa e rápida. (Figuras 19 e 20).

Com esse programa a espécie será identificada através dos seus deslocamentos químicos registrados pela RMN  $^{13}\text{C}$ . A pessoa digita os valores encontrados e automaticamente o programa relata a espécie.



**Figura 19.** Tela principal do SisMIME (Sistema Molecular de Identificação de Madeiras de *Eucalyptus*).



**Figura 20.** Tela para cadastro dos espectros.

## 6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A relação filogenética existente entre espécies do gênero *Eucalyptus* já foi confirmada por fatores morfológicos e anatômicos, entretanto uma nova técnica como a RMN <sup>13</sup>C onde congrega os diferentes ambientes dos átomos de carbono de várias substâncias que compõe um determinado extrato pode revelar por comparação o comportamento bioquímico das espécies frente às variações decorrentes dos fatores genéticos, bio e abióticos, as quais são submetidos. A relação de deslocamento químico entre extratos seguramente revela a potencialidade dessa ferramenta na medida que uni os aspectos químicos aos outros dados de anatomia da madeira e morfologia vegetal.

## 7- CONCLUSÕES GERAIS

- Anatomicamente as espécies e o híbrido apresentaram poucas diferenças, sendo as mais notáveis: demarcações das camadas de crescimento; pontoações intervasculares e pontoações raio-vasculares e tipos de parênquima axial.
- Comparando os teores de extrativos nas regiões do alburno, zona de transição e no cerne nas duas espécies e no híbrido, verificou-se que quantitativamente os extratos ciclohexânicos e acetato de etila não sofreram alterações significativas, o mesmo não ocorreu para os extratos metanólicos. Sendo assim, provavelmente o extrato mais polar foi o mais influenciado pelo aspecto ambiental.
- Para fins sistemáticos de identificação os teores de extrativos não revelaram nenhum propósito.
- Os dados espectroscópicos de RMN  $^{13}\text{C}$  mostraram que os espectros dos extratos ciclohexânicos oriundos da madeira do cerne, foram considerados os mais representativos para o estudo de identificação de madeiras das espécies *E. grandis*, *E. urophylla* e do híbrido *E. urograndis*, devido ao número de sinais encontrados e por considerar essa região com maior estabilidade e madura.
- Carbono de carbonila/acila na faixa entre 155 a 220 ppm foi encontrado apenas nos espectros dos extratos ciclohexânicos provenientes da madeira da região do cerne do híbrido *E. urograndis*.
- As absorções de  $^{13}\text{C}$  nos espectros dos extratos ciclohexânicos da zona de transição confirmam o status de transição entre o alburno e o cerne, visto que novos sinais foram encontrados no cerne.
- Através da RMN de  $^{13}\text{C}$  foi possível desenvolver um modelo de identificação visto que cada espécie e o híbrido apresentaram perfis espectrais específicos.

## 8- SUGESTÕES

- Pode-se sugerir que a espécie *E. grandis* apresenta uma dominância em relação à espécie *E. urophylla* durante o processo de desenvolvimento do híbrido *E. urograndis*.
- Com esse estudo novos perfis poderão ser traçados para diferentes espécies, contribuindo nos processos de identificação da madeira.



## 9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, M. S. Estado de la tecnologia en usos no tradicionales de la madera de eucalipto en el Mercosur y otros países. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUTOS SÓLIDOS DE MADEIRA DE ALTA TECNOLOGIA E ENCONTRO SOBRE TECNOLOGIAS APROPRIADAS DE DESDOBRO, SECAGEM E UTILIZAÇÃO DA MADEIRA DE EUCALIPTO, 1., 1998, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Minascentro, 1998. p. 82-105.
- ADAMS, D.B.; ADAMS, W.W.N. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. **Annual Reviews Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, California v.43, p. 599-626. 1992.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442p.
- ALZATE, S.B.A. **Caracterização da madeira de árvores de clones de *Eucalyptus grandis*, *E. saligna* e *E. grandis x urophylla***. 2004. 133 f. Tese (Doutorado em Recursos Florestais)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- ANGYALOSSY-ALFONSO, V. Caracterização anatômica da madeira e casca das principais espécies de *Eucalyptus* do estado de São Paulo. **Silvicultura**, São-Paulo, v. 28, p. 720-725.1983.
- ANGYALOSSY-ALFONSO, V. **Caracterização anatômica do lenho e da casca das principais espécies de *Eucalyptus* L'Hérit cultivadas no Brasil**. 1987. 188 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade de São Paulo, São Paulo.
- ANON. International glossary of terms used in wood anatomy: Prepared by the Int Assoc Wood Anatomists. **Trop Woods**, New York, v. 107, p. 1-36, 1957.
- ARACRUZ CELULOSE. **Eucalipto; uma árvore amiga da natureza**. Espírito Santo: Aracruz, 2000. 34p.
- BARROS, N.F.; NEVES, J. C.; NOVAIS, R. F. Recomendação de fertilizantes minerais em plantios de eucalipto. In: GONÇALVES, J.L. de M; BENEDETTI, V. **Nutrição e fertilização florestal**. Piracicaba: IPEF, 2000. p. 269-286.
- BAZAAZ, F.; CHIARIELLO, N.; COLEY, P.; PITELKA, L. Allocating resources to reproduction and defense. **Bioscience**, Uberlandia-MG, V. 37, P. 58- 75, 1987.
- BEGG, J.E.; TURNER, N.C Crop water deficits. **Advances in Agronomy**, Newark, U.S.A, v.28, p.161-217, 1976.
- BLAKE, S. T. Four New species of Eucalyptus. **Austrobaileya**, Brisbane (Australia), v.1, n.1, p. 7-9, 1977.

BOLAND, D. J. **Forest trees of Austrália**. 4. ed. Sidney: Government Publishing Service: CSIRO, 1992. 24 p.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, Ottawa, v. 161, p. 839-851, 2001.

BOWERS, M. D.; STAMP, N. E. Effects of plant age, genotype, and herbivory on *Plantago* performance and chemistry. **Ecology**, Washington, v. 74, n. 6, p. 1778-1791, 1993.

BRAUM, S.; KALINOWKI, H. O.; BERGER, S. 100 and More Basic NMR Experiments. **VCH Publishers**, New York, p. 237-239, 1996.

BREITMAIER, E.; VOELTER, W.; **Carbon-13 NMR Spectroscopy: high resolution methods and applications in organic chemistry and biochemistry**. 3. ed. New York: VCH Publishers, 1987. 400 p.

BURTIN, P., JAY-ALLEMAND, C.; CHARPENTIER, J. P.; JANIN, G. Natural wood colouring process in *Juglans* sp. (*J. nigra*, *J. regia* and hybrid *J. nigra* × *J. regia*) depends on native phenolic compounds accumulated in the transition zone between sapwood and heartwood. **Trees**, Ardon, v. 12, p. 258-264, 1998.

BUSNARDO, C.A.; FOELKEL, C.E.B.; ZVINAKEVICIUS, C.; KAJIYA, S.; ALVES, E.E. Estudo comparativo da qualidade da madeira de algumas espécies de eucaliptos tropicais. In: CONGRESSO NACIONAL ANUAL DE CELULOSE E PAPEL, 11, 1978, São Paulo. **Trabalhos técnicos**. São Paulo: ABCP, 1978. p.191- 197.

CALIXTO, J.B. Medicamentos Fitoterápicos. In: Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. 2001, Santa Catarina, Campus Chapecó, Argos- Ed. Universitária: UNOESC. 2001. p.297-315.

CHAFE, S.C. Relationships between shrinkage and specific gravity in the wood of *Eucalyptus*. **Australian Forestry**, Australian, v. 57, p. 59-61, 1994.

CIENFUEGOS, F. Análise instrumental/ Freddy Cienfuegos, Delmo Vaitsman. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 606 p.

CLEMENTE FILHA, A.C. **Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia forticata* Link e *Plantago major* L**. 1996. 67 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CONALGO, L. A. **Análise do teor de óleo em sementes por RMN**. São Carlos, São-Paulo: EMBRAPA, 1996. 14 p (Circular técnica embrapa, 3).

CORE, H.. **Wood structure and identification**. 2. ed. Syracuse, N.Y.: Syracuse University Press, 1979. 182 p.

COSTA, E.M. A madeira do eucalipto na indústria moveleira. In: IV SEMADER, 1996, Curitiba. **Anais...** do IV SEMADER, 1996. p. 35.

COSTELLO, L. R. Disponível em: <http://www.mouget.com/mlinks/lemonweb.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2008.

COZZO, D.; RODRIGUEZ, E.M. - Anatomia comparada de la madera de 14 espécies de **Eucalyptus** cultivadas en la Argentina. **Revista de la facultat de agronomia y veterinaria**, Buenos Aires, v.14, p. 416-44, 1959.

CRAIB, W. G. Jan. Regional Spread of Misture in the Wood of trees, III. **Notes R Botanical Garden**, Edinburgh, v. 14, n. 66, p. 1-11, 1923.

CROASMUN, W. R.; CARLSON, R. M. K.; **Two- Dimensional NMR Spectroscopy**. New York: VCH Publishers, 1994. 958 p.

DADSWELL, H. E., HILLIS, W. E. Wood. In: HILLIS, W. E. **Wood extractives and their significance to the pulp and paper industry**. New York: Academic, 1972. 55 p.

DADSWELL, H.E. Methods for the identification of the light - colored woods of the genus **Eucalyptus**. **Bulletin CSIRO**, Melbourne, v. 78, p. 1-102, 1934.

DEROME, A. E. **Modern NMR Techniques for Chemistry Research**; Oxford: Pergamon; 1987. 280 p.

DREW, P.J. Identification of timbers. **Bulletin NSW**, Sydney, v. 7, p. 1-6, 1914.

EVANS, W.C. **Farmacognosia**. 13. ed. Mexico: Nueva Editorial Interamericana, 1991. 453 p.

FAO. **El eucalipto en la repoblación forestal**. 11. ed. Montes, Roma: Colección FAO, 1981. 723 p.

FARIA, L.L. **Influência do fotoperíodo no crescimento, composição química e indução de raízes tuberosas do feijão jacatupé (*Pachyrrhizus tuberosus* Lam. Spreng)**. 1998. 46 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FAVER, K.L.; GERIK, T.J.; THAXTON, P.M.; EL-ZIK, K. M. Late season water stress in cotton: Leaf gas exchange and assimilation capacity. **Crop Science**, Madison, v.36, p.922-928, 1996.

FERREIRA, F. **Patologia Florestal- Principias Doenças Florestais no Brasil**. Viçosa: Sociedade de Investigaçã Florestal, 1989. 570 p.

FERREIRA, M. **Melhoramento genético do *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake direcionado para a formação de populações base tipo casca lisa ("gum")**. Piracicaba: FAPESP, 1999. 106 p. (não publicado).

FREIRE, C.S.R, SILVESTRE, A.J.D., PASCOAL NETO, C.; CAVALEIRO, J.A.S. Lipophilic extractives of the inner and outer barks of **Eucalyptus globulus**. **Holzforchung**, Berlin, v. 56, p. 372-379, 2002.

FREITAS, M.C. Elementos para a identificação expedita de 26 madeiras de folhosas. **Revista da junta de investigações do Ultramar**, Angola, v. 13, n. 3, p. 365-76, 1965.

GARLIPP, R.C.D. **Biomassa de florestas plantadas como fonte alternativa de energia em substituição ao óleo combustível industrial no Estado de São Paulo**. 1982. 200 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GARNER, W.W.; ALLARD, H.A. Effect of relative length of day and night and others factors of the environment on growth and reproduction in plants. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.18, n.11, p.553-606, 1920.

GOLFARI, L.; CASER, R.L.; MOURA, V. P. G. **Zoneamento ecológico esquemático para reflorestamento no Brasil (2º aproximação)**. Brasília: PRODEPEF, PNUD/FAO/IBDF/BRA-45, 1978. 66 p.

GONZÁLEZ, E. R. **Transformação Genética de *Eucalyptus grandis* e do Híbrido *E. grandis* × *E. urophylla* via *agrobacterium***. 2002. 93f. Tese (Doutorado em Genética) - Escola Superior de Agricultura, Luiz de Queiroz, São Paulo.

GONÇALEZ, J. C. **Caracterization technologique de quatre espèces peu connues de la Forêt Amazonienne: anatomie, chimie, couleur, propriétés physiques et mécaniques**. 1993. 444 f. Thèse (Doctorat- Technologie du Bois) École Nationale du Gêne Rural des Eaux et des Forêts. Nancy.

GOTTLIEB, O. R.; YOSHIDA, M. Natural Products of Woody Plants. In: ROWE, J. W. **Chemicals Extraneous to the lignocellulosic Cell Wall**. Berlin: Springer Verlag, 1989. p. 439-511.

GOINGUENÉ, S.P. & TURLINGS, T.C.J. The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. **Plant Physiology**, v.129, p. 1296-1307, 2002.

GOVEA, C. F.; MORI, E. S.; BRASIL, M. A. M.; VALLE, C. F. ; BONINE, C. A. V. Seleção fenotípica por padrão de proporção de casca rugosa persistente em árvores de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, visando formação de população base de melhoramento genético: qualidade da madeira. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE IMPROVEMENT OF EUCALYPTUS, 1997, Salvador. **Anais...** Aolombo: EMBRAPA, CNPF, 1997, p. 355-360.

GULLICHSEN, J.; PAULAPURO, H. **Forest products chemistry**. OyHelsinki: Fapet Oy, 2000. 350 p.

HADACEK, F. Secondary metabolites as plant traits: Current assessment and future perspectives. **Critical reviews in Plant Sciences**, v. 21 n. 4, p. 273-322, 2002.

HARBONE, J. B. **The flavonoids advances in research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1994. 611 p.

HILLINGER, C., HÖLL, W.; ZIEGLER, H. Lipids and lipolytic enzymes in the trunkwood of *Robinia pseudoacacia* L. during heartwood formation. I. Radial distribution of lipid classes. **Trees**, Ardon, v. 10, p. 366–375, 1996a.

HILLINGER, C., HÖLL, W.; ZIEGLER, H. Lipids and lipolytic enzymes in the trunkwood of *Robinia pseudoacacia* L. during heartwood formation. II. Radial distribution of lipases and phospholipases. **Trees**, Ardon v. 10, p.:376–381. 1996b.

HILLIS, W.E. **Heartwood and Tree Exudates**. Springer-Verlag Berlin, New York: T.E. Timell, 1987. 268 p.

HSIAO, T.C. Plant response to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, v.24, p.519-570, 1973.

JANKOWSKY, I. P. **Influência da densidade básica e do teor de extrativos na umidade de equilíbrio da madeira**. 1979. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"; Universidade de São Paulo, Piracicaba.

JIANG, A.C.D.; GAOB, H.Y.; ZOUB, Q.; JIANGA, G.M.; LIA, L. H. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. **Environmental and Experimental Botany**, p.1-10, 2004.

JUNTILLA, O.; SVENNING, M. M.; SOLHEIM, B. Effects of temperature and photoperiod on frost resistance of white clover (*Trifolium repens*) ecotypes. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.79, n.3, p.435-438, 1990.

KAISER, C. R. RMN 2D: detecção inversa e gradiente de campo na determinação estrutural de compostos orgânicos. **Química Nova**. Rio de Janeiro, v.23, n.1, p. 231-236, 2000.

KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T. T. **Physiology of woody plants**. New York: Academic Press, 1979. 745p.

KUMAR, A.; DATTA, S. Histochemical and histoenzymological changes during heartwood formation in a timber tree *Shorea robusta*. **Proc. Indian Acad. Sci. Plant Sci**, v. 99, p. 21–27, 1989.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**, São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. 531 p.  
LECOEUR, J.; SINCLAIR, R.T. Field pea transpiration and leaf growth in response to soil water deficits. **Crop Science**, Madison, v.36, p.331-335, 1996.

LEPAGE, E. S. Química da Madeira. In: **Lepage. E.S.** Manual de preservação de madeiras, São Paulo: IPT, 1986. p. 69-97.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2003. 382 p.

MACEDO JR., F. C. de. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup>C no estudo de rotas biossintéticas de produtos naturais. **Quím. Nova**, v. 30, n. 1, p. 116-124, 2007.

- MACHÁCKOVÁ, I.; KONSTANTINOVA, T. N.; SEERGEVA, L. I.; LOZHNIKOVA, V. N.; GOLYANOVSKAYA, S. A.; DUDKO, N. D.; EDER, J.; AKSENOVA, N.P. Photoperiodic control of growth, development and phytohormone balance in *Solanum tuberosum*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.102, n.2, p.272-278, 1998.
- MAGEL, E., DROUET, A.; CLAUDOT, A.; ZIEGLER, H. Formation of heartwood substances in the stemwood of *Robinia pseudoacacia* L. I. Distribution of phenylalanine ammonium lyase and chalcone synthase across the trunk. **Trees**, Ardon, v. 5, p. 203–207, 1991.
- MAGEL, E.; HÜBNER, B. Distribution of phenylalanine ammonia lyase and chalcone synthase within trunks of *Robinia pseudoacacia* L. **Bot. Acta**, v. 110, p. 314–322, 1997.
- MAGEL, E., JAY-ALLEMAND, C.; ZIEGLER, H. Formation of heartwood substances in the stemwood of *Robinia pseudoacacia* L.: II. Distribution of nonstructural carbohydrates and wood extractives across the trunk. **Trees**, Ardon, v. 8, p. 165–171, 1994.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford Chemistry series: 33. Clarendon Press Oxford, 1987. 374 p.
- MARTIN, B.; COSSALTER, C. Les Eucalyptus des Iles de la Sonda. **Bois et Forêts des Tropiques**, v. 163; p. 3,25, 1975.
- MARTINS, F. G., IKEMORI, Y. K. Produção de híbridos de eucalipto na Aracruz. In: REUNIÃO SOBRE TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS, 1987, Piracicaba. **Anais...**, Piracicaba, IPEF, 1987.15 p.
- McCREE, K.J.; FERNÁNDEZ, C.J. Simulation model for studying physiological water stress responses of whole plants. **Crop Science**, Madison, v.29, p.353-360, 1989.
- MOLICA, S.G. **Produção de biomassa e eficiência nutricional de híbridos interespecíficos de eucalipto em duas regiões bioclimáticas de Minas Gerais**. 1992. 84 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- MORA, A. L., GARCIA, C. H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. São Paulo: SBS, 2000. 112 p.
- MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* Parte 1 - Estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Revista Árvore**, v. 29, n. 3, p. 461-470, 2005.
- MORO, L. **Utilização da cinza de biomassa florestal como fonte de nutriente em povoamentos puros de *Eucalyptus grandis***. 1994. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- MOURA, V. P. G.; CASER, R. L.; ALBINO, J. C.; GUIMARÃES, D. P.; MELO, J. T.; COMASTRI, S. A. **Avaliação de espécies e procedências de *Eucalyptus* em Minas Gerais e Espírito Santo: resultados parciais**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1980, 140 p. (Boletim de Pesquisa 1).

MOURA, V. P. G. **Provenance variation of *Eucalyptus camaldulenses* Den, in Brazil.** Oxford: Oxford University, 1986. 304 f. Thesis (Doctor of Philosophy)- Oxford University, Oxford.

NOBUCHI, T., TAKAI, K.; HARADA, H. Distribution of heartwood phenols in the trunk of Sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) and partial characterization of heartwood formation. **Mokuzai Gakkaishi**, v. 33, p. 88-96. 1987a.

NOBUCHI, T., TOKUCHI, N.; HARADA, H. Variability of heartwood formation and cytological features in broadleaved trees. **Mokuzai Gakkaishi**, v. 33, p. 596-604. 1987b.

OLIVEIRA, J. T. S., DELLA LÚCIA, R. M. **Teores de extrativos de 27 espécies de madeiras nativas do Brasil ou aqui introduzidas.** Viçosa, MG: Sociedade de investigações Florestais, 1994. 5 p. (Boletim Técnico).

OLIVEIRA, J. T. S.; FREITAS, M.C. Eucaliptos da Namaacha. **Revista de ciências agronômicas**, v. 3, p. 1-230, 1970.

OLIVEIRA, J. T. S.; HELLMEISTER, J. C.; SIMÕES, J. W.; FILHO, T. M. Caracterização da madeira de sete espécies de eucaliptos para a construção civil: 1- avaliações dendrométricas das árvores. **Scientia Forestalis**, Piracicaba-SP, n. 56, p. 113-124, 1999.

OLIVEIRA, J. T. S., SOUZA, L. C., DELLA LÚCIA, R. M. JÚNIOR, W. P. S. Influência dos Extrativos na Resistência ao Apodrecimento de seis Espécies de Madeira. **Árvore**, Viçosa-MG, v. 29, n. 5, p. 819-826, 2005.

PARRAGA, A.M.S. **Description general y anatomica de los maderas del grupo andino:** Projectos Andinos de Desarrollo Tecnológico en el area de los recursos forestales tropicales. Lima, Junta del Acuerdo de Cartagena, 1981. 442 p.

PAULA, R. C. de; PIRES, I.E.; PAULA, N. F. de; BARROS, N. F. de; BORGES, R. de C. G. Exportação de nutrientes por famílias de meio-irmãos de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Colombo. **Proceedings...** Colombo, Embrapa, 1997. p. 200-205.

PEREIRA, J.A. **Contribuição para a identificação macrográfica das nossas madeiras.** São-Paulo: Anuario da escola polytechnica, 1933. 165 p.  
PEREIRA, J.C.D.; STURION, J.A.; HIGA, A.R.; HIGA, R.C.V.; SHIMIZU, J.Y. **Características da madeira de algumas espécies de eucalipto plantadas no Brasil.** Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 113 p. (Embrapa Florestas).

RECORD, S. J.; HESS, R. W. **Timbers of the new world.** New Haven: Yale University Press, 1949. 640 p.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil: manual de dendrologia.** 2. ed. São Paulo: Edgard Brucher, 1981. 294 p.

RUY, O. F. **Variação da qualidade da madeira em clones de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake da Ilha de Flores, Indonésia.** Piracicaba, 1998. 69 f. (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira)- "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo, São-Paulo.

SALISBURY, F. B.; Ross, C. W.; **Plant Physiology**. 4. ed., Wadsworth Publishing Co.: Belmont, 1991. 559 p.

SANDERS, J. K. M.; CONSTABLE, E. C.; HUNTER, B. K. **Modern NMR Spectroscopy**. Oxford, New York, 1989. 309 p.

SANDERS, J. K. M.; J. D. MERSH: Nuclear magnetic double resonance: The use of difference spectroscopy. **Prog. Nucl. Magn. Res. Spectr.** v. 15, p. 353-400, 1983.

SANTOS, J.A. Tecnologia de transformação do eucalipto para madeira maciça. In: CONGRESSO FLORESTAL NACIONAL, 3., 1994, Figueira da Foz. **Anais...** Coimbra, 1994, p.232-243.

SANTOS, R. F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande-PB, v.2, n.3, p.287-294, 1998.

SANTOS, S. R. **Influência da Qualidade da Madeira de Híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e do processo Kraft de polpação na Qualidade da Polpa Branqueada**. 2005. 178 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais, com opção em Tecnologia de Produtos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SILVA, J. C.; ASIS, T. F.; OLIVEIRA, J. T. Melhoramento genético para a qualidade da madeira. **Revista da madeira**, n.75, 10 p, 2003.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. Wiley & Sons; New York, 1995. 496 p.

SIVAKUMAR, M.V.K., SHAW, R.H. Relative evaluation of water stress indicators for soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, v.70, p.619-623, 1978.

SJÖSTRÖM, E.; ALÉN, R. **Analytical methods in wood chemistry, pulping, and papermaking**. Berlin: Springer-Verlag, 1998. 316 p.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and produceres of statistics: a biometrical approach**. 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 631 p.

SUN, R. C.; TOMKINSON, J. Comparative study of organic solvent and water-soluble lipophilics extractives from wheat straw I: yield and chemical composition. **Journal of Wood Science**, v. 49, p. 47-52, 2003.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed., Porto Alegre: Artemed, 2004. 719 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Redwood City/California: The Benjamin/Cummings Publishing Co. 1991. 559 p.

TOMAZELLO FILHO, M. Estrutura anatômica da madeira de oito espécies de eucalipto cultivadas no Brasil. **ESALQ/USP**, Piracicaba, DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA, n. 29, p. 25-36. 1985 a.



TOMAZELLO FILHO, M. Variação radial da densidade básica e da estrutura anatômica da madeira do *Eucalyptus gummifera*, *E. microcorys* e *E. pilularis*. **ESALQ/USP**, Piracicaba, DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA, n. 30, p. 45-54. 1985b.

TOMAZELLO FILHO, M. Variação radial da densidade básica e da estrutura anatômica da madeira do *E. saligna* e *E. grandis*. ESALQ/USP, Piracicaba, DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA, n. 29, p. 37-45. 1985 c.

TUSET, R. & DURAN, F. - Descripción y clave macroscópicas de maderas comerciales en el Uruguay. Boletín. Facultad de Agronomía, Montevideo, v. 114, p. 1-63, 1970.

VIEIRA, F. S., BUCSAN, B. Ocorrências naturais de *E. urophylla* na Indonésia. **Silvicultura**, n. 14, p. 359-3061, 1980.

VITTI, A. M.; BRITO, J.O. Produção de óleoessencial de eucalipto. **IPEF- NOTÍCIAS**, v. 23, n.146, p. 11, 1999.

WELCH, M.B. - Note on the structure of some eucalypts woods. **Journal and proceedings of the royal society New South Wales**, Sydney, v. 5, p. 169-76, 1924.

YANG, J.; KAMDEN, D.P.; KEAATHLEY, D. E.; HWAN HAN, K. Seasonal changes in gene expression at the sapwood–heartwood transition zone of black locust (*Robinia pseudoacacia*) revealed by cDNA microarray analysis. **Tree Physiology**. Heron Publishing—Victoria, Canada, v. 24, p. 461-474, 2004.

ZOBEL, J.B.; BUJTENEN, J.P. **Wood variation: its causes and control**. New York: Springer-Verlag, 1989. 363 p.