











## ARTIGO ORIGINAL

# Propriedades da madeira como potenciais biomarcadores de tolerância a distúrbios fisiológicos: comparação de genótipos de eucalipto divergentes

Wood properties as potential biomarkers of physiological disorder tolerance: comparison of divergent eucalyptus genotypes

Maria Naruna Felix Almeida<sup>1</sup> , Edgard Augusto de Toledo Picoli<sup>2</sup> , Jordão Cabral Moulin<sup>1</sup> , Lucio Mauro da Silva Guimarães<sup>3</sup> , Edval Angelo Valverde Zauza<sup>3</sup> , Rodolfo Araujo Loos<sup>3</sup> , Kevin Brown Hall, Danielly Silveira Gomes<sup>1</sup> , Gustavo Jaske da Conceição<sup>1</sup> , Paola Delatorre Rodrigues<sup>1</sup> , Graziela Baptista Vidaurre<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Jerônimo Monteiro, ES, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, MG, Brasil

<sup>3</sup>Suzano SA, São Paulo, SP, Brasil

**Como citar:** Almeida, M. N. F., Picoli, E. A. T., Moulin, J. C., Guimarães, L. M. S., Zauza, E. A. V., Loos, R. A., Hall, K. B., Gomes, D. S., Conceição, G. J., Rodrigues, P. D., & Vidaurre, G. B. (2022). Propriedades da madeira como potenciais biomarcadores de tolerância a distúrbios fisiológicos: comparação de genótipos de eucalipto divergentes. *Scientia Forestalis*, 50, e3864. <https://doi.org/10.18671/scifor.v50.22>

## Resumo

O distúrbio fisiológico do eucalipto (DFE) é caracterizado por sintomas como trincamento de casca, perda da dominância apical, emissão de brotações adventícias, abscisão foliar, entre outros. O uso de biomarcadores da madeira facilmente mensuráveis pode contribuir como critério de seleção de clones tolerantes. O objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades da madeira e casca de clones de *Eucalyptus* comerciais tolerantes e suscetíveis ao distúrbio fisiológico e identificar perfis de respostas relacionadas ao distúrbio. Três árvores por clone foram amostradas ao longo do fuste nas posições do DAP (diâmetro à altura do peito), 50% e 75% da altura total. As propriedades avaliadas foram densidade da madeira e da casca, porcentagens de cerne, alburno e casca, e composição química da madeira (extrativos, lignina, siringil/guaiacil, holocelulose e cinzas). A densidade de casca foi semelhante estatisticamente entre os clones, independente da sua classificação de susceptibilidade ao DFE. Apesar de divergentes, a densidade da madeira e teor de extrativos, não apresentaram tendências em relação a susceptibilidade ou tolerância dos clones. Em geral, clones tolerantes apresentaram maior crescimento, biomassa aérea, porcentagem de cerne e relação siringil/guaiacil e menor teor de casca. Essas características são indicadas como potenciais biomarcadores relacionados à tolerância ao DFE.

**Palavras-chave:** Seca-de-ponteiros; Distúrbio fisiológico do eucalipto; Melhoramento do eucalipto; Madeira; Casca; Cerne.

## Abstract

Eucalypt Physiological disorder (PD) is characterized by symptoms such as bark cracking, loss of apical dominance, adventitious shoot emission, leaf abscission, among others. The use of wood biomarkers easily measurable can contribute as a criterion for the selection of tolerant clones. The objective of this study was to evaluate the wood and bark properties of commercial *Eucalyptus* clones tolerant and susceptible to the PD and to identify profiles of wood and bark responses related to the disorder. Three

**Fonte de financiamento:** Suzano SA.

**Conflito de interesse:** Nada a declarar.

**Autor correspondente:** narunafelix@gmail.com

**Recebido:** 7 Março 2022.

**Aceito:** 27 Maio 2022.

**Editor:** Mauro Valdir Schumacher.



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o artigo científico seja corretamente citado.

trees per clone were sampled at 3 positions along the trunk: DBH (diameter at breast height), 50 and 75%. The wood properties evaluated were wood and bark density, heartwood, sapwood and bark percentages, and wood chemical composition (extractives, lignin, syringyl/guaiacil, holocellulose, and ash). Although there were different values of bark density between the clones and their PD susceptibility classification, the averages were statistically similar. Despite the difference of wood density and extractive content, there were no trends in relation to clone susceptibility or phenotype tolerance. In general, tolerant clones showed higher growth, aboveground biomass, heartwood percentage and syringyl/guaiacil ratio, and lower bark content. These characteristics are indicated as potential biomarkers related to physiological disorder tolerance.

**Keywords:** Dieback; Eucalypt physiological disorder; Eucalypt breeding; Wood; Bark; Heartwood.

## INTRODUÇÃO

Dos 9 milhões de hectares de florestas plantadas no Brasil, 6,97 milhões são ocupados pelo gênero *Eucalyptus* (Indústria Brasileira de Árvores, 2020). A grande extensão de áreas plantadas é resultado da alta adaptabilidade e produtividade desse gênero que supre a demanda de matéria-prima, principalmente, das empresas produtoras de celulose e papel (36% das áreas), siderurgia a carvão vegetal (12%) e painéis de madeira e pisos laminados (6%).

Distúrbio fisiológico do eucalipto (DFE), ou *dieback*, foi o nome dado ao conjunto de alterações observadas em árvores de plantios florestais que sofreram perda de seu fenótipo normal. O DFE é caracterizado por uma interação complexa de quatro principais fatores: genéticos, nutricionais, climáticos e edáficos (Reis, 2011). A etiologia do DFE ainda é desconhecida e os sintomas causados por essa desordem fisiológica incluem, trincamento de casca, perda da dominância apical e emissão de brotações adventícias ao longo do tronco, abscisão foliar, entre outros. O DFE compromete o crescimento e a produtividade dos plantios e pode culminar na morte das plantas (Jurskis, 2005; Alfenas et al., 2009; Câmara et al., 2018). Durante o ciclo de cultivo dos plantios, são observados sintomas mais graves da seca de ponteiros em árvores de 12 a 24 meses de idade; no entanto, em idades superiores a 24 meses, os sintomas também aparecem, mas geralmente de menor intensidade a partir do quarto ano (Leite et al., 2014).

Acredita-se que a ocorrência destes distúrbios seja a causa de alguns problemas em florestas nativas e plantadas de eucalipto desde 1920 na Austrália, ocasionando a deterioração gradual da sanidade das árvores ao longo de meses ou anos e, eventualmente, sua morte prematura (Ciesla & Donaubauer, 1994; Ross & Brack, 2015). No Brasil, os primeiros relatos de distúrbios do eucalipto foram feitos nas décadas de 70 (Ferreira, 1989) e 80 (Maschio et al., 1996). Esses relatos compreendiam geralmente regiões muito específicas, como o Vale do Rio Doce em Minas Gerais e, a partir de 2007, em áreas do Estado do Espírito Santo e do Sul da Bahia foram registrados problemas de crescimento relacionados ao distúrbio fisiológico em plantios comerciais de eucalipto.

Os fatores relacionados a ocorrência do DFE são complexos além de várias interações possíveis (Mueller-Dombois 1986). Os sintomas de distúrbio fisiológico são, em geral, relacionados com fatores ambientais externos (como calor, seca, alta salinidade e frio), que são prejudiciais ao estabelecimento e/ou crescimento das plantas (Rodrigues et al., 2022). Essas interações dificultam isolar as causas e decorrências do DFE nas áreas.

Desta forma, buscar e reconhecer padrões de comportamento e características dos materiais genéticos com maior e menor ocorrência do distúrbio podem contribuir para estratégias associadas à identificação e seleção de genótipos tolerantes em árvores jovens (Corrêa et al., 2017). Além disso, o uso de marcadores morfológicos específicos facilmente mensuráveis pode contribuir para o conhecimento da estrutura populacional e seu potencial produtivo (Condé et al., 2020). Existem uma série de biomarcadores, sejam morfológicos, anatômicos, fisiológicos, nutricionais dentre outros, que tem potencial para subsidiar a seleção de genótipos mais tolerantes ao déficit hídrico e distúrbio fisiológico do eucalipto (Toledo Picoli et al., 2021). Estes biomarcadores precisam ser validados para seu uso em

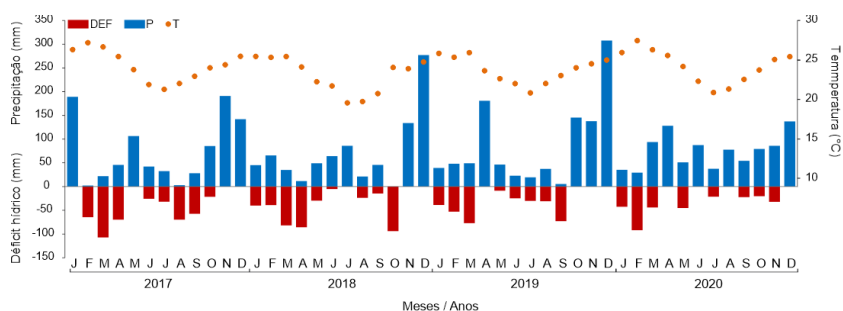
programas de melhoramento visando a seleção de genótipos tolerantes ao DFE e melhor compreensão de estratégias que contribuam para a tolerância ao distúrbio.

Variações significativas nas características de elementos de vasos da madeira entre genótipos tolerantes e mais suscetíveis foram associadas à sua resistência ao déficit hídrico e ao distúrbio fisiológico (Bueno et al., 2020). Enquanto a espessura da parede celular, comprimento da fibra e o diâmetro do vaso foram maiores nas madeiras com sintomas de DFE, a densidade básica da madeira foi menos afetada (Câmara et al., 2018). Em relação à composição química, árvores que cresceram sob maior grau de estresse apresentaram maiores teores de extrativos e lignina, o que pode afetar fatores relacionados à polpação (Rodrigues, 2013).

Enquanto as causas do DFE precisam ser melhor definidas, o mapeamento da ocorrência de distúrbios nos sítios e, principalmente, a seleção de materiais genéticos tolerantes ao DFE são alternativas que vem sendo adotadas pelos gestores florestais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar as propriedades da madeira e da casca de clones de *Eucalyptus* comerciais divergentes quanto a tolerância ao distúrbio fisiológico e identificar perfis de respostas da madeira e casca relacionados ao distúrbio.

## MATERIAL E MÉTODOS

A coleta do material é vinculada ao projeto de pesquisa “Descrição anatômica de folhas e caules de clones semicomerciais da Suzano S.A.” que tem o objetivo de caracterização e descrição da anatomia da folha, casca e lenho de amostras de clones de interesse da Suzano Papel e Celulose, mantidos em áreas de plantios comerciais ou experimentais. O plantio experimental avaliado está localizado em Mucuri no Sul da Bahia/BR e foi conduzido durante os anos de 2015 a 2020, 5 anos. O local possui clima caracterizado como Aw (tropical com inverno seco) e apresentou, entre os anos de 2017 e 2020, temperatura média do ar de 24°C, precipitação de 915 mm ano<sup>-1</sup> e déficit hídrico de 380 mm ano<sup>-1</sup>. Os dados mensais de precipitação, temperatura e déficit hídrico ao longo de 4 anos de plantio são apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Dados mensais de temperatura, precipitação e déficit hídrico no período de 2017 a 2020 em Mucuri, Bahia, Brasil.

As coletas foram realizadas em parcelas de um experimento instalado em uma área de plantio experimental da Suzano S.A. que apresenta histórico de ocorrência do distúrbio. O delineamento experimental foi composto por 4 blocos para a avaliação de 30 clones, dos quais foram selecionados seis genótipos (clones) de acordo com histórico de incidência do distúrbio nos *stands* comerciais variando de mais tolerante, intermediariamente tolerante e suscetível. Os critérios e classificação dos clones são apresentados nas Tabelas 1 e 2. Três (3) dos 4 blocos originais foram amostrados, sendo o quarto bloco preservado de acordo com o planejamento do experimento pela empresa. Cada bloco foi originalmente composto por 6 plantas. Uma árvore viva e representativa foi derrubada para amostragem e avaliação em cada um dos blocos designados para a amostragem experimental deste experimento. Para efeito de coleta, árvores mortas foram desconsideradas.

Amostras de lenho dos seis clones de *Eucalyptus* spp. foram coletadas. No momento da coleta, as árvores foram classificadas quanto à severidade do distúrbio fisiológico seguindo uma metodologia descrita na Tabela 1.

**Tabela 1.** Classificação dos clones de *Eucalyptus* em relação à severidade do distúrbio fisiológico baseado na observação de sintomas.

Nível	Sintomas
Nível 0	Plantas assintomáticas.
Nível 1	Lesão superficial deprimida, trincamento e ligeiro descolamento da casca ("escamação"), aleatoriamente distribuídos no tronco ou nos galhos.
Nível 2	Queima do terço basal da copa, trincamento da casca e intumescimento em pontos específicos do caule ou aleatoriamente distribuídos ao longo da haste principal ou dos ramos.
Nível 3	Seca de ponteiros, bifurcação do tronco principal, superbrotação, formação de casca corticosa e liberação de casca (periderme exofilática) e edemas (calosidade ou lixa) foliares.
Nível 4	Secamento da copa e morte da planta.

Paralelamente à classificação fenotípica realizada no momento da coleta, o histórico sobre a tolerância ao DFE de cada clone foi disponibilizado pela empresa. O fenótipo previamente observado para cada clone e a severidade de sintomas observados durante a coleta estão apresentados na Tabela 2. O clone EGU-S, apesar de classificado como tolerante pela empresa, apresentou sintomas de distúrbio em campo, de modo que o clone será identificado como suscetível nessa pesquisa.

**Tabela 2.** Caracterização dos clones avaliados em relação ao distúrbio fisiológico.

Espécie/Híbrido	Fenótipo <sup>1</sup>	Avaliação DFE <sup>2</sup>	Identificação
<i>Eucalyptus urophylla</i>	Tolerante	Nível 0	EU-T
<i>Eucalyptus grandis</i>	Tolerante	Nível 0	EG-T
<i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	Tolerante	Nível 0	EGU-T
<i>Eucalyptus grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	Tolerante	Nível 1	EGU-S
<i>Eucalyptus urophylla</i>	Suscetível	Nível 1	EU-S
<i>Eucalyptus grandis</i>	Suscetível	Nível 3	EG-S

<sup>1</sup>Fenótipo fornecido pela empresa; <sup>2</sup>Avaliação das árvores amostradas baseado nos critérios descritos na Tabela 1.

Foram amostradas três árvores por clone. As árvores foram cortadas e 3 discos de aproximadamente 3-4 cm foram retirados no diâmetro à altura do peito (DAP) e nas posições de 50 e 75% da altura comercial do fuste. Durante a coleta foram medidos DAP, altura total e peso verde da parte aérea das árvores. Amostras de madeira, galhos e folhas foram coletadas e levadas para laboratório onde foram secas em estufa para obtenção do peso seco. O volume do fuste com casca foi calculado pela metodologia de tronco de parabolóide por Smalian. As diferentes alturas da amostragem ao longo do tronco foram separadas em quatro seções: 0%-DAP, DAP-50%, 50-75% e 75%-100%. Obteve-se o volume de cada seção (Equação 1) e pela soma dos valores das seções foi calculado o volume total da árvore. Na ausência dos discos da base e da altura total, para área da base foi padronizada a mesma área do DAP e a área a 100% foi considerada 1/3 da área obtida no disco a 75% da árvore.

$$V_s = \frac{h}{2}(S_i + S_{i+1}) \quad (1)$$

Em que:  $V_s$  = volume da seção [m<sup>3</sup>];  $h$  = altura referente ao ponto da seção [m];  $S_i$  = área no menor nível de altura da seção [m<sup>2</sup>];  $S_{i+1}$  = área no maior nível de altura da seção [m<sup>2</sup>]

A biomassa aérea das árvores foi calculada multiplicando o peso verde da árvore obtido em campo (fuste, galhos e folhas) pelo fator de correção (proporção de matéria seca) que foi gerado durante a coleta pela relação do peso seco com o peso úmido das amostras. A qualidade da madeira dos clones foi avaliada quanto a densidade básica da madeira, porcentagem de cerne, alburno e casca, e composição química: extrativos, lignina, holocelulose e cinzas. Da casca das árvores, foi determinada a sua densidade.

A determinação da densidade básica da madeira (DBM) e densidade básica da casca (DBC) foi realizada de acordo com a recomendação da Norma Brasileira Regulamentadora - NBR 11941 (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2003). Cunhas retiradas dos discos de lenho livres de defeitos e amostras de cascas nas três posições foram imersas em água até a saturação total e após esse processo foi realizada a obtenção do volume deslocado. A casca retirada de cada cunha foi utilizada para fazer a densidade conforme o mesmo procedimento do lenho. Posteriormente, as amostras foram secas em estufa a uma temperatura de  $103 \pm 5$  °C, por aproximadamente uma semana. A densidade básica foi determinada pela razão entre a massa seca e o volume saturado.

A delimitação de cerne e alburno foi realizada visualmente nos discos retirados do DAP pela diferença de cor. Os discos foram polidos em lixadeira de cinta com lixas de grãos 50 e 80. Para realçar a presença de cerne e confirmar a observação visual, a face lixada dos discos foi pincelada com o indicador *Dimethyl yellow* (0,2% em etanol) (Brito et al., 2019). Cada disco foi mensurado em um sistema de análise de imagem (Image Pro-plus 6.2), obtendo as áreas total do disco com casca, lenho (sem casca) e as áreas de cerne. As áreas obtidas foram aplicadas na Equação 1, para cálculo do volume total do fuste, volume de lenho e volume de cerne. A porcentagem de cerne, alburno e casca foram calculadas pela relação percentual entre o volume de cada porção e o volume total do fuste.

Para caracterização química da madeira, amostras representativas de um quarto de cada um dos discos das três posições foram fragmentadas em moinho de martelo e homogeneizada para composição de uma amostra composta por árvore. A amostra foi peneirada e o material que ficou retido entre as peneiras de 40 e 60 *mesh* foi utilizado para análises dos teores de extrativos, lignina (solúvel e insolúvel) e cinzas.

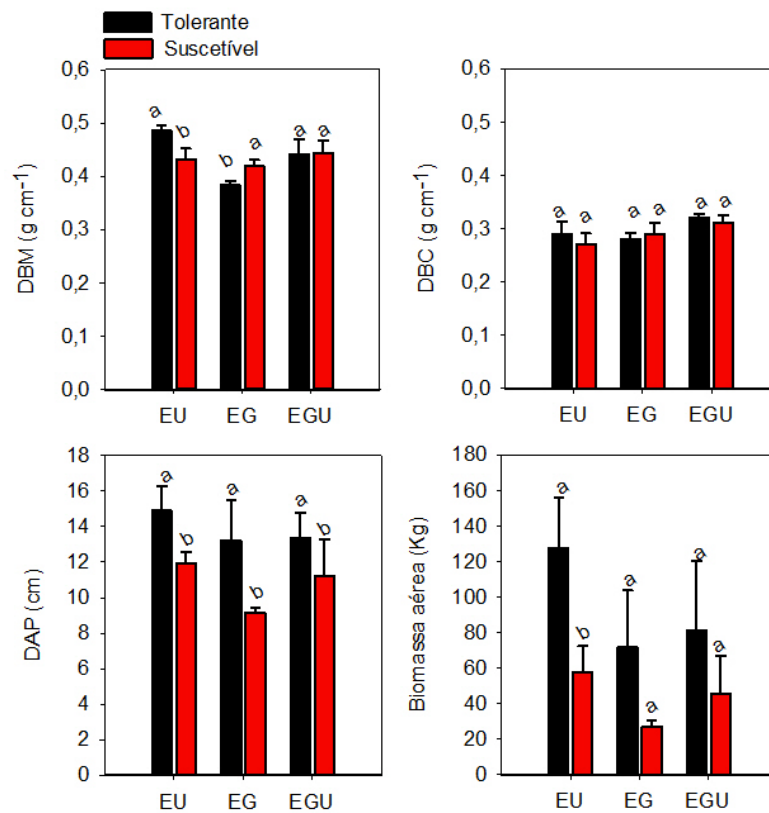
Na determinação do teor de extrativos totais, 2 g de partículas (massa seca) foram submetidas à extração sequencial em soxhlet com álcool-tolueno (1:2) por 5 h, álcool etílico por 4 h e água quente por 1 h (Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 1997). O teor de lignina foi determinado pelo método denominado Lignina klason (Technical Association of the Pulp and Paper Industry, 1998) utilizando a serragem livre de extrativos. A determinação da análise de cinzas foi realizada segunda a norma ASTM D-1762/84 (American Society for Testing and Materials, 2021). O teor de holocelulose foi calculado pela diferença das porcentagens de extrativos, lignina e cinzas. Todas as análises químicas foram realizadas em duplicata para cada árvore amostrada.

O software R Studio versão 4.0.2 foi utilizado para a análise estatística dos dados. A análise de variância foi utilizada como comparação das médias das variáveis DAP, biomassa, densidade da madeira, densidade de casca, porcentagens de cerne, alburno, casca, extrativos, lignina, holocelulose e cinzas, e relação S/G entre os dois clones da mesma espécie ou híbrido tolerante *versus* suscetíveis ao DFE. Médias gerais agrupando acessos tolerantes *versus* suscetíveis ao DFE, independente do clone, também foram comparadas. Para os dados que não apresentaram homogeneidade de variâncias a ANOVA de Wech foi utilizada. Para cada clone de mesma espécie ou híbrido, a análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para ordenar os dados que apresentaram diferenças significativas entre o clone tolerante e com sintomas nos testes de média a fim de identificar quais variáveis com maior peso nessa diferença (pacote FactoMineR e factoextra, software estatístico R Studio). Para avaliação de *E. urophylla* foram utilizados: densidade da madeira, biomassa, volume, %cerne, holocelulose, extrativos. Para *E. grandis*: densidade da madeira, S/G, %cerne, %alburno, lignina, extrativos. Para *E. grandis* x *E. urophylla*: %cerne, %alburno, %casca, S/G, holocelulose, extrativos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A densidade da madeira dos clones variou entre 0,38 g cm<sup>-1</sup> (EG-T) e 0,49 g cm<sup>-1</sup> (EU-T) (Figura 2). Dentre os genótipos avaliados, os clones de *E. urophylla*, EU-T e EU-S, apresentaram comportamento contrário a *E. grandis*, onde o clone tolerante apresentou maior densidade da madeira. Dentre os genótipos avaliados, os clones EGU, tolerante e sensível ao distúrbio fisiológico, apresentaram densidade de madeira semelhantes.

Apesar das diferenças entre os clones e divergência em relação a ocorrência do distúrbio fisiológico, os valores de densidade apresentaram variações dentro de intervalos de desvio padrão semelhantes. Rodrigues (2013) e Câmara et al. (2018) também observaram ausência de relação entre a presença de distúrbio fisiológico e a densidade da madeira de árvores de eucalipto.



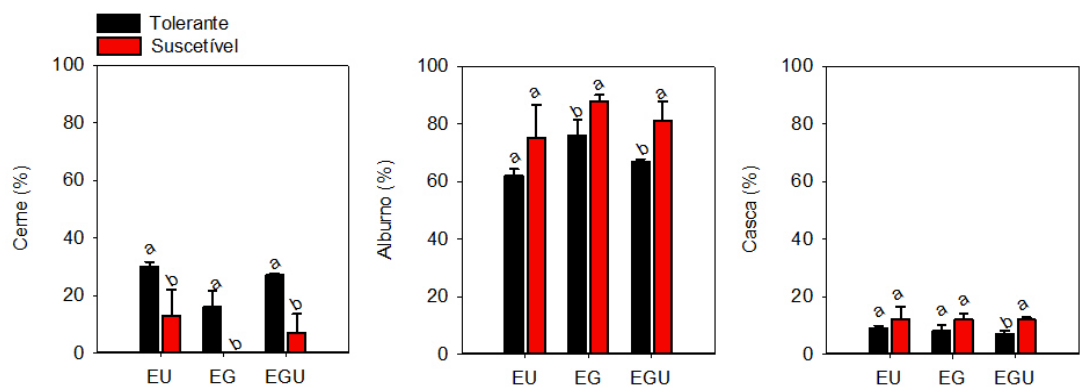
**Figura 2.** Valores médios de densidade básica da madeira (DBM), densidade básica de casca (DBC), diâmetro na altura do peito (DAP) e biomassa aérea de clones de *Eucalyptus* tolerantes e suscetíveis ao distúrbio fisiológico em Mucuri, Bahia, Brasil. Médias comparadas pelo teste f, p<0,05.

A densidade básica da casca foi estatisticamente semelhante entre os clones tolerantes e com sintomas de DFE para todos os clones testados (Figura 2). No entanto, todos os clones suscetíveis ao DFE apresentaram menores DAPs em relação à mesma espécie tolerante. Em relação à biomassa de madeira produzida, somente para a espécie de *E. urophylla* houve diferenças estatística para essa característica.

Características de crescimento geralmente são as primeiras indicadoras da presença do distúrbio. As árvores de eucalipto com distúrbio fisiológico avaliadas por Rodrigues (2013) apresentam crescimento reduzido e piores propriedades de madeira. O estresse climático influencia negativamente o crescimento (Campoe et al., 2016), o que ocorre pela indução do fechamento estomático em condições de limitação, promovendo um menor crescimento das

árvores (Gonçalves et al., 2017), o que pode também estar associado aos sintomas do DFE observados nessa pesquisa.

Apenas para o híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla* (EGU) observou-se diferença estatística em relação à porcentagem de casca, com o clone suscetível (EGU-S) apresentando mais casca em comparação ao clone tolerante (EGU-T) (Figura 3). Geralmente, cascas grossas são relacionadas à função protetora do tecido como tolerância à seca, ao fogo e a prevenção de danos ao tronco. Ainda que a densidade básica da casca tenha sido semelhante entre os clones classificados como tolerantes e suscetíveis (avaliação empírica, dados de campo da Suzano) ao DFE, a composição estrutural e ou química da casca pode ter potencial efeito sobre essa característica.



**Figura 3.** Porcentagens de cerne, alburno e casca em relação ao volume total das árvores de clones de *Eucalyptus* tolerante e que apresentaram susceptibilidade ao distúrbio fisiológico em Mucuri, Bahia/BR. Médias comparadas entre clone tolerante e com sintomas de mesma espécie ou híbrido pelo teste f,  $p < 0,05$ .

Rachaduras na casca e pequenos cancrs são características esperadas em decorrência do estresse (Alfenas et al., 2009). O perfil do fenótipo de tolerância ao déficit hídrico apresenta aspecto visual da casca semelhante ao do DFE e pode ser reconhecido como parte da sintomatologia do déficit hídrico e do DFE (Toledo Picoli et al., 2021). Entretanto, inexitem na literatura informações relacionando propriedades da casca e o fenótipo de tolerância ao distúrbio fisiológico. Portanto, a composição e estrutura da casca são características promissoras que devem ser avaliadas em próximos trabalhos com maior controle e detalhes.

Os clones suscetíveis ao DFE apresentaram menores porcentagens de cerne para as três espécies (teste f,  $p < 0,05$ ). A formação do cerne é um processo regulado internamente pela árvore associado ao controle do alburno, ou seja, uma proporção ótima de cerne/alburno é mantida visando o transporte de água no xilema (Berthier et al., 2001). Esse processo é diretamente relacionado com o crescimento e, para *E. urophylla*, sítios mais secos e menos produtivos apresentaram menor produção de cerne no Brasil (Almeida et al., 2020).

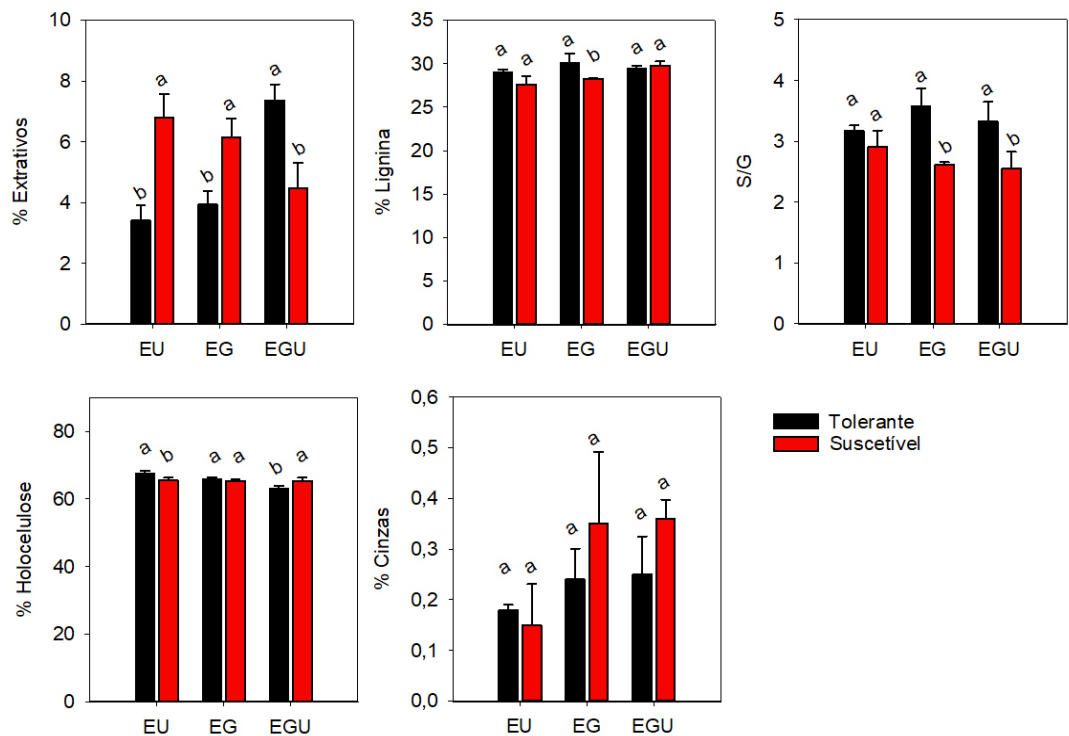
As árvores que apresentaram sintomas de DFE no clone de *E. urophylla* apresentaram crescimento em diâmetro reduzido. Esse comportamento pode ser relacionado a um atraso na cernificação devido ao lento crescimento da árvore e, por consequência, mudanças no transporte de seiva ou na atividade cambial resultado do DFE. Alterações na cernificação acontecem para que a árvore seja mais eficiente no que diz respeito ao gasto de nutrientes minerais e carboidratos necessários para nutrir as células vivas do alburno (Bamber, 1976).

O teor de extrativos variou entre os clones tolerantes e com sintomas nos clones avaliados (Figura 3). Enquanto para as espécies de *E. urophylla* e *E. grandis* os clones com sintomas apresentaram maiores teores de extrativos, para o híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla* a resposta foi inversa, com o clone tolerante apresentado maior porcentagem de extrativo.

Alguns extrativos desempenham um papel no metabolismo das células vivas na árvore, fonte de energia e reserva funcional para biossíntese de componentes; enquanto outros são produzidos como mecanismos de defesa, normalmente associados a distúrbios ou restrição hídrica na planta (Frederico, 2009; Gouvêa et al., 2012). O acúmulo de compostos fenólicos já foi observado em tecidos afetados por estresse. Esses metabólitos atuam como antioxidantes e, conseqüentemente, protegem as células vegetais contra as espécies reativas de oxigênio (Yan & Tam, 2011).

Os taninos e flavonoides também participam de uma série de mecanismos de defesa complexos nas células vegetais, como inativação de enzimas, inibição de microrganismos, atividade antioxidante e eliminação de radicais livres (Kraus et al., 2003; Anouhe et al., 2018). Dias et al. (2017), ao comparar genótipos de eucalipto divergentes quanto a tolerância ao déficit hídrico submetidas ou não a condições de estresse, relataram diferenças no conteúdo de fenólicos em folhas dos clones tolerantes sob estresse, enquanto o genótipo mais sensível não apresentou esta variação. Com base nas discussões apresentadas e nos resultados do presente estudo, sugere-se a identificação dos grupos de extrativos da madeira como uma abordagem útil em trabalhos futuros visando a discriminação dos clones de eucalipto tolerantes e suscetíveis ao DFE.

Em relação ao teor de lignina total, somente *E. grandis* apresentou diferença entre os clones, enquanto para a relação siringil/guaicil além de *E. grandis*, o híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla* também apresentou menor relação S/G em clone com sintomas de DFE. O teor de holocelulose não apresentou tendência relacionada à presença de sintomas. Todos os clones apresentaram porcentagem de cinzas inferiores a 1% (Figura 4).



**Figura 4.** Valores médios de teores de extrativos, lignina, siringil/guaicil (S/G), holocelulose e cinzas em clones de *Eucalyptus* tolerantes e suscetíveis ao distúrbio fisiológico em Mucuri, BA, Brasil. Médias comparadas pelo teste f, p<0,05.

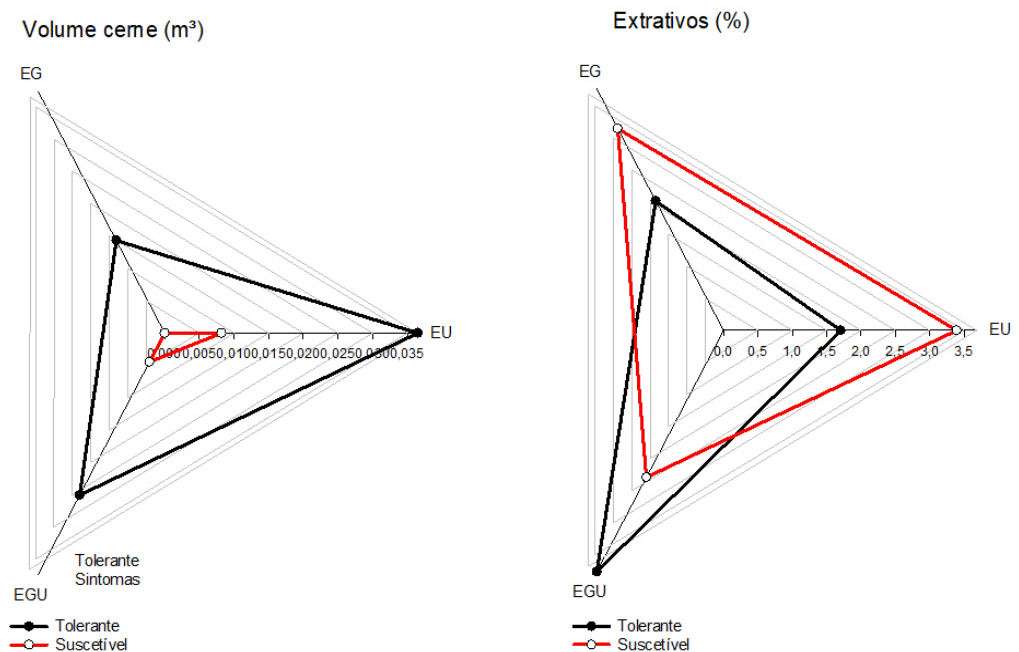


A lignificação é um processo fisiológico que responde diretamente a diversos estresses ambientais (Boudet et al., 2003). Malavasi et al. (2016) observaram alterações no teor de lignina em plantas lenhosas sob condições de estresse hídrico, no entanto Câmara et al. (2018) observaram que os teores de lignina total foram semelhantes entre clones com diferentes níveis de distúrbio fisiológico.

A síntese de lignina representa uma das vias biossintéticas que mais demandam energia, de modo que plantas submetidas a diferentes níveis de estresse vão modificar a síntese de lignina por que precisam realocar energia para se adaptar à condição limitante, modificações que são observadas no crescimento e no desenvolvimento das plantas (Amthor, 2003; Boerjan et al., 2003). Os resultados indicam que o teor de lignina foi menos relacionado com a tolerância ao DFE comparativamente à sua composição. A exceção de *E. urophylla*, os acessos tolerantes de EG e EGU apresentaram maior proporção de S/G em comparação aos seus respectivos acessos suscetíveis.

O processo de diferenciação e lignificação mais prolongado e lento em traqueídes é responsável por gerar mais lignina do tipo Guaiacyl nas plantas (Wagner et al., 2015), o que também foi observado pela menor relação S/G associada aos genótipos que apresentam sintomas ao distúrbio fisiológico, ou seja, nas árvores que apresentaram crescimento mais lento.

A relação de volume de cerne está nitidamente relacionada às informações da ocorrência do distúrbio em plantios comerciais (Figura 5), onde os clones suscetíveis apresentam uma amplitude de volume mais restrita, independente da composição espécie pura ou híbrido. A porcentagem dos extrativos, por outro lado, apresenta aparente sobreposição do perfil da relação com a incidência do DFE, mas apresenta uma inversão do padrão ao se avaliar o genótipo híbrido tolerante em comparação aos genótipos identificados como espécies puras.

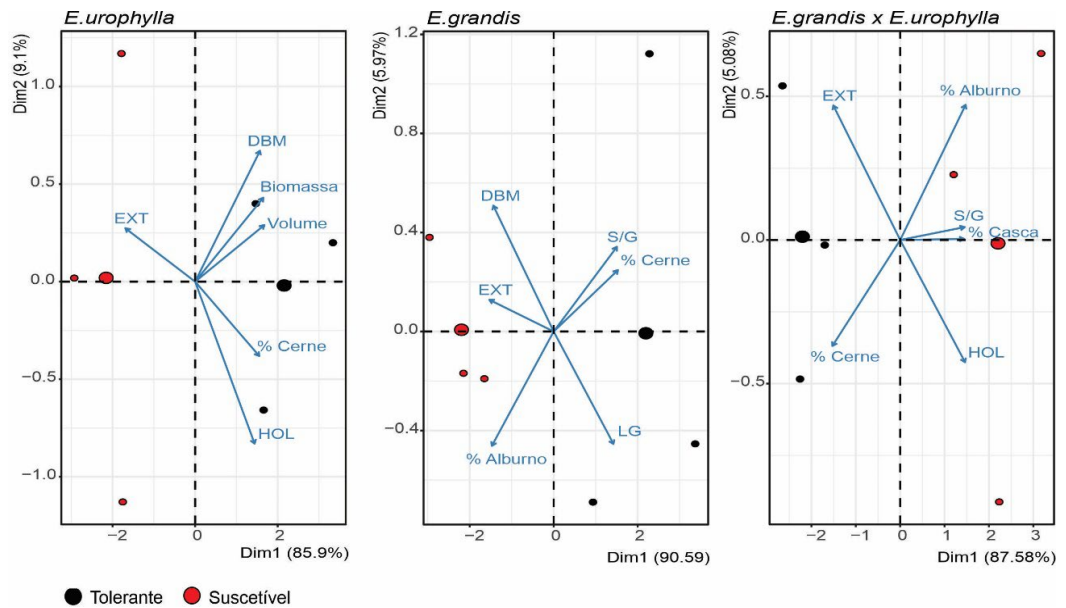


**Figura 5.** Relação entre as proporções de volume de cerne e porcentagem de extrativos nos clones tolerantes e suscetíveis nas espécies de *Eucalyptus* avaliadas.

Maiores teores de extrativos são relacionados com maior porcentagem de cerne (Gominho & Pereira, 2000; Gominho et al., 2001; Miranda et al., 2007). No entanto, apesar de todos os clones com sintomas apresentarem menor volume de cerne em comparação com os respectivos clones tolerantes de cada espécie, as espécies de *E. grandis* e *E. urophylla* apresentaram maior teor de extrativos nos clones com sintomas (Figura 5). Essa relação indica

uma associação do teor de extrativos à susceptibilidade ao DFE ou, alternativamente, que a composição dos extrativos e, não apenas a quantidade, seja importante para a tolerância.

Os clones se comportaram de forma distinta quanto as características que foram mais associadas a clones tolerantes e afetados pelo distúrbio fisiológico (Figura 6). Para todos os clones, o primeiro componente da PCA apresentou contribuição > 85%. Enquanto que para *E. urophylla* e *E. grandis* a característica da madeira mais associada à presença de DFE foi o maior teor de extrativos, para *E. grandis* x *E. urophylla* foi a maior porcentagem de casca. Clones tolerantes foram associados a variáveis que demonstram maior crescimento (volume e biomassa aérea) e porcentagem de cerne na madeira.



**Figura 6.** Distribuição das características da madeira na análise de componentes principais (PCA) por híbrido avaliado. Somente as características que apresentaram diferenças estatísticas significativas foram utilizadas. DBM: densidade básica da madeira, Biomassa: biomassa aérea da árvore, EXT: extrativos, LG: lignina, S/G: siringil/guaiacil, HOL: holocelulose.

A densidade da madeira é uma variável muito associada à linhagem dos acessos de eucalipto, o que deve ser levado em consideração ao identificar determinados clones como suscetíveis e tolerantes. As modificações nas características da madeira são importantes para manutenção do crescimento e da sobrevivência dos clones em diferentes condições. Rocha et al. (2020) observou que, para diferentes clones, déficit hídrico promoveu modificações na densidade da madeira em diferentes níveis, com cada material genético apresentando comportamento característico ao seu clima de origem.

O híbrido de *E. grandis* x *E. urophylla* apresentou conjunto de características agrupadas na PCA diferente das espécies isoladas, demonstrando como as respostas fenotípicas são relacionadas à genética do material. O fato de ser um genótipo híbrido entre *E. grandis* e *E. urophylla*, pode lhe proporcionar, mediante pressão de seleção e a observação das características adequadas, a reunião de características mais favoráveis e relacionadas à tolerância ao DFE.

Considerando a comparação de médias gerais para clones tolerantes em oposição a clones que apresentaram sintomas ao DFE (Tabela 3), os tolerantes apresentaram DAP, biomassa aérea, porcentagem de cerne, volume de cerne, volume de alburno e relação S/G significativamente maiores. Os clones com sintomas apresentam maior porcentagem de alburno e de casca.

**Tabela 3.** Médias gerais para propriedades dos clones tolerantes vs clones com sintomas de distúrbio fisiológico (teste f, p<0,05).

Propriedade	Tolerante	Suscetível
DBM	0,44a	0,43a
DAP	13,82a	10,78b
DBC	0,30a	0,29a
Biomassa aérea	93,49a	43,37b
% Cerne	24,08a	6,79b
% Alburno	68,18b	80,99a
% Casca	7,74b	12,22a
Volume de cerne	0,05a	0,01b
Volume de alburno	0,13a	0,08b
Volume de casca	0,02a	0,01a
Extrativos	4,90a	5,80a
Lignina	29,49a	28,55a
Holocelulose	65,38a	65,36a
Cinzas	0,22a	0,29a
SG	3,36a	2,69b

A falta de testemunhas (árvores do mesmo clone sem sintomas) dificultou a comparação por inviabilizar o isolamento do efeito da presença/ausência de sintomas do DFE nas características da madeira. Isso acontece porque apesar dos clones comparados com e sem sintomas serem da mesma espécie/híbrido, o *background* genético pode ter influenciado na variação de algumas propriedades. No entanto, as médias gerais permitiram diferenciar os clones mais tolerantes como aqueles que apresentaram melhor desempenho, refletido em maior crescimento. O raciocínio inverso é válido ao se interpretar a maior porcentagem de alburno nos clones suscetíveis, o que é consequência de um menor desenvolvimento e cernificação. A maior relação S/G por outro lado, além de poder ser relacionada a um maior crescimento (Wagner et al., 2015), reflete também um diferencial no metabolismo entre clones mais tolerantes e suscetíveis.

## CONCLUSÃO

A redução de porcentagem de cerne foi a principal característica comum a todos os clones que apresentaram sintomas de distúrbio fisiológico. As características de crescimento, DAP e produção de biomassa; e da madeira; volume do cerne, proporção de casca e proporção S/G, foram associadas à tolerância ao DFE. As tendências observadas para cada característica avaliada podem direcionar o comportamento diferenciado entre os clones mais e menos tolerantes ao distúrbio.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Suzano SA por ceder o material vegetal e pelo financiamento do projeto “**DESCRIÇÃO ANATÔMICA DE FOLHAS E CAULES DE CLONES SEMICOMERCIAIS DA SUZANO**”.

## REFERÊNCIAS

Alfenas, A. C., Zauza, E. A. V., Mafia, R. G. & Assis, T. F. (2009). *Clonagem e doenças do eucalipto* (2. ed.). Viçosa: Editora UFV.

- Almeida, M. N. F., Vidaurre, G. B., Pezzopane, J. E. M., Lousada, J. L. P. C., Silva, M. E. C. M., Câmara, A. P., Rocha, S. M. G., Oliveira, J. C. L., Campoe, O. C., Carneiro, R. L., Alvares, C. A., Tomazzello-Filho, M., Figueiredo, F. M., & Oliveira, R. F. (2020). Heartwood variation of *Eucalyptus urophylla* is influenced by climatic conditions. *Forest Ecology and Management*, 458, 117743. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117743>.
- Amthor, J. S. (2003). Efficiency of lignin biosynthesis: a quantitative analysis. *annals of botany*, 91(6), 673-695. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcg073>.
- Anouhe, J. B. S., Niamké, F. B., Faustin, M., Virieux, D., Pirat, J. L., Adima, A. A., Kati-Coulibaly, S., & Amusant, N. (2018). The role of extractives in the natural durability of the heartwood of *Dicorynia guianensis* Amsl: new insights in antioxidant and antifungal properties. *Annals of Forest Science*, 75(1), 15. <http://dx.doi.org/10.1007/s13595-018-0691-0>.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. (2003). *ABNT NBR 11941: madeira: determinação da densidade básica*. Rio de Janeiro: ABNT.
- American Society for Testing and Materials – ASTM. (2021). *Standard Test Method for Chemical Analysis of Wood Charcoal*. West Conshohocken: ASTM International. Recuperado em 07 de março de 2022, de <https://www.astm.org/d1762-84r21.html>.
- Bamber, R. K. (1976). Heartwood, its function and formation. *Wood Science and Technology*, 10(1), 1-8. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00376379>.
- Berthier, S., Kokutse, A. D., Stokes, A., & Fourcaud, T. (2001). Irregular heartwood formation in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait): consequences for biomechanical and hydraulic tree functioning. *Annals of Botany*, 87(1), 19-25. <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.2000.1290>.
- Boerjan, W., Ralph, J., & Baucher, M. (2003). Lignin biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 54(1), 519-546. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938>.
- Boudet, A. M., Kajita, S., Grima-Pettenati, J., & Goffner, D. (2003). Lignins and lignocellulosics: A better control of synthesis for new and improved uses. *Trends in Plant Science*, 8(12), 576-581. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2003.10.001>.
- Brito, A. S., Vidaurre, G. B., Oliveira, J. T. S., Missia da Silva, J. G., Rodrigues, B. P., & Carneiro, A. C.O. (2019). Effect of planting spacing in production and permeability of heartwood and sapwood of *Eucalyptus* wood. *Floresta e Ambiente*, 26(spe1), e20180378. <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.037818>.
- Bueno, I. G. A., Picoli, E. A. T., Isaias, R. M. S., Lopes-Mattos, K. L. B., Cruz, C. D., Naomi Kuki, K., & Valverde Zauza, E. A. (2020). Wood anatomy of field grown eucalypt genotypes exhibiting differential dieback and water deficit tolerance. *Current Plant Biology*, 22, 100136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpb.2020.100136>.
- Câmara, A. P., Oliveira, J. T. S., Bobadilha, G. S., Vidaurre, G. B., Tomazello Filho, M., & Soliman, E. P. (2018). Physiological disorders affecting dendrometric parameters and eucalyptus wood quality for pulping wood. *Cerne*, 24(1), 27-34. <http://dx.doi.org/10.1590/01047760201824012480>.
- Campoe, O. C., Munhoz, J. S. B., Alvares, C. A., Carneiro, R. L., de Mattos, E. M., Ferez, A. P. C., & Stape, J. L. (2016). Meteorological seasonality affecting individual tree growth in forest plantations in Brazil. *Forest Ecology and Management*, 380, 149-160. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2016.08.048>.
- Corrêa, T. R., Picoli, E. A. T., Souza, G. A., Condé, S. A., Silva, N. M., Lopes-Mattos, K. L. B., Resende, M. D. V., Zauza, E. A. V., & Oda, S. (2017). Phenotypic markers in early selection for tolerance to dieback in *Eucalyptus*. *Industrial Crops and Products*, 107, 130-138. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.032>.
- Ciesla, W. M., & Donaubauer, M. E. (1994). Decline and dieback of trees and forests: a global overview. *FAO Forestry Paper*, (120), 1.
- Condé, S. A., Picoli, E. A. T., Corrêa, T. R., Dias, L. A. S., Lourenço, R. D. S., Silva, F. C. S., Pereira, W. L., & Zauza, E. A. V. (2020). Biomarkers for early selection in eucalyptus tolerant to dieback associated with water deficit. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 15(3), 1-10. <http://dx.doi.org/10.5039/agraria.v15i3a7515>.
- Toledo Picoli, E. A., Resende, M. D. V., & Oda, S. (2021). Come hell or high water: breeding the profile of eucalyptus tolerance to abiotic stress focusing water deficit. In D. K. Gupta & J. M. Palma (Eds.), *Plant growth and stress physiology* (Plant in Challenging Environments, No. 3). Cham: Springer.
- Dias, C. N., Picoli, E. A. T., Souza, G. A., Farag, M. A., Scotti, M. T., Barbosa Filho, J. M., Silva, M. S., & Tavares, J. F. (2017). Phenolics metabolism provides a tool for screening drought tolerant *Eucalyptus grandis* hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, 11(8), 1016-1024. <http://dx.doi.org/10.21475/ajcs.17.11.08.pne511>.

- Ferreira, F. A. (1989). *Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil*. Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais.
- Frederico, P. G. U. (2009). *Efeito da região e da madeira de eucalipto nas propriedades do carvão vegetal* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Gominho, J., & Pereira, H. (2000). Variability of heartwood content in plantation-grown *Eucalyptus globulus* Labill. *Wood and Fiber Science*, 32, 189-195.
- Gominho, J., Figueira, J., Rodrigues, J. C., & Pereirat, H. (2001). Within-tree variation of heartwood, extractives and wood density in the eucalypt hybrid *Urograndis* (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*). *Wood and Fiber Science*, 33, 3-8.
- Gonçalves, J. L. M., Alvares, C. A., Rocha, J. H. T., Brandani, C. B., & Hakamada, R. (2017). Eucalypt plantation management in regions with water stress. *Southern Forests*, 79(3), 169-183. <http://dx.doi.org/10.2989/20702620.2016.1255415>.
- Gouvêa, A. F. G., Gomes, C. M., Matos, L. M., Souza, T. A., Kumabe, F. J. B., & Benites, P. K. R. M. (2012). Efeito do sítio nas características tecnológicas da madeira de *Eucalyptus* para produção de celulose Kraft. *Revista Ciência da Madeira*, 3(2), 102-114.
- Indústria Brasileira de Árvores – IBÁ. (2020). *Brazilian Tree Industry Annual Report - base year 2019* (160 p.). São Paulo.
- Jurskis, V. (2005). Eucalypt decline in Australia, and a general concept of tree decline and dieback. *Forest Ecology and Management*, 215(1-3), 1-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2005.04.026>.
- Kraus, T. E. C., Dahlgren, R. A., & Zasoski, R. J. (2003). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems: a review. *Plant and Soil*, 256(1), 41-66. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026206511084>.
- Leite, F. P., Novais, R. F., Silva, I. R., Barros, N. F., Neves, J. C. L. N., Medeiros, A. G. B., Ventrella, M. C., & Villani, E. M. A. (2014). Manganese accumulation and its relation to eucalyptus shoot blight in the Vale do Rio Doce. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 38(1), 193-204. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832014000100019>.
- Malavasi, U. C., Davis, A. S., & Malavasi, M. de M. (2016). Lignin in woody plants under water stress: a review. *Floresta e Ambiente*, 23(4), 589-597. <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.143715>.
- Maschio, L. M. D. A., Ferreira, C. A., Auer, C. G., Grigoletti Júnior, A., Wiecheteck, M. R. S., Nardelli, A. M. B., & Bernardi, C. A. (1996). Descrição de uma anomalia ocorrida em *Eucalyptus grandis* na região de Arapoti-PR, Brasil. *Boletim de Pesquisa Florestal*, 32-33, 85-87.
- Miranda, I., Gominho, J., Lourenço, A., & Pereira, H. (2007). Heartwood, extractives and pulp yield of three *Eucalyptus globulus* clones grown in two sites. *Appita Journal*, 60, 485-488.
- Mueller-Dombois, D. (1986). Perspectives for an etiology of stand-level dieback. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 221-243. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.es.17.110186.001253>.
- Reis, M. S. (2011). *A influência dos distúrbios fisiológicos na produtividade da madeira de eucalipto no extremo sul da Bahia* (Monografia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Rocha, S. M. G., Vidaurre, G. B., Pezzopane, J. E. M., Almeida, M. N. F., Carneiro, R. L., Campoe, O. C., Scolforo, H. F., Alvares, C. A., Neves, J. C. L., Xavier, A. C., & Figura, M. A. (2020). Influence of climatic variations on production, biomass and density of wood in eucalyptus clones of different species. *Forest Ecology and Management*, 473, 118290. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118290>.
- Rodrigues, B. P. (2013). *Qualidade do lenho de árvores de clone de Eucalyptus grandis x E. urophylla sob estresse abiótico e o impacto na produção de celulose* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro.
- Rodrigues, B. P., Oliveira, J. T. S., Demuner, B. J., Mafia, R. G., & Vidaurre, G. B. (2022). Chemical and kraft pulping properties of young eucalypt trees affected by physiological disorders. *Forests*, 13(4), 504. <http://dx.doi.org/10.3390/f13040504>.
- Ross, C., & Brack, C. (2015). *Eucalyptus viminalis* dieback in the Monaro region, NSW. *Australian Forestry*, 78(4), 243-253. <http://dx.doi.org/10.1080/00049158.2015.1076754>.
- Technical Association of the Pulp and Paper Industry – TAPPI. (1997). *T 264 cm-97: preparation of wood for chemical analysis*. Atlanta: TAPPI.
- Technical Association of the Pulp and Paper Industry – TAPPI. (1998). *T 222om-98: acid insoluble lignin in wood and pulp industry*. Atlanta: TAPPI.
- Wagner, A., Tobimatsu, Y., Phillips, L., Flint, H., Geddes, B., Lu, F., & Ralph, J. (2015). Syringyl lignin production in conifers: proof of concept in a Pine tracheary element system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(19), 6218-6223. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1411926112>.

Yan, Z. Z., & Tam, N. F. Y. (2011). Temporal changes of polyphenols and enzyme activities in seedlings of *Kandelia obovata* under lead and manganese stresses. *Marine Pollution Bulletin*, 63(5-12), 438-444. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.04.027>.

**Contribuição dos Autores:** GC: conceptualization, funding acquisition, supervision, writing; PGL: conceptualization, data curation, formal analysis, methodology, writing; CRS, HGL and NA: data curation, formal analysis; MNFA: formal analysis, writing, methodology, data curation, EATP: conceptualization, supervision, writing, methodology, data curation, JCM:: supervision, writing, methodology, data curation, LMSG: funding acquisition, supervision, data curation, EAVZ: funding acquisition, supervision, data curation, conceptualization, RAL: funding acquisition, supervision, data curation, KHB: funding acquisition, supervision, data curation, conceptualization, DSG: investigation, methodology, GJC: investigation, methodology, PDR: investigation, methodology, GBV: supervision, writing, methodology, data curation.