Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Avaliação da qualidade do lenho de árvores de *Eucalytpus* geneticamente modificadas

Nayara Marcon Vire

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências, Programa: Recursos Florestais. Opção em: Tecnologia de Produtos Florestais

Piracicaba
2016

Nayara Marcon Vire
Engenheira Florestal

Avaliação da qualidade do lenho de árvores de *Eucalyptus* geneticamente modificadas

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **MARIO TOMMASIELLO FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestra em Ciências, Programa: Recursos Florestais. Opção em: Tecnologia de Produtos Florestais

Piracicaba
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP

Vire, Nayara Marcon
Avaliação da qualidade do lenho de árvores de *Eucalytpus* geneticamente modificadas / Nayara Marcon Vire. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
103 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Eucalipto transgênico 2. Qualidade do lenho 3. Raios X 4. Espectrocopia 5. NIR
I. Título

CDD 634.9734
V814a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico à minha mãe Maria Selma Marcon, por seu amor, carinho, por ser minha base e exemplo.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida por todas as bênçãos e por guiar meus caminhos com sua imensa luz.

Ao Raphael Branco de Araujo por seu amor, companheirismo e paciência.

Ao meu sobrinho e afilhado Benjamim Marcon Camacho por ser a luz de nossas vidas e a minha irmã Natália.

A toda minha família em especial minha vó Therezinha por seu amor, dedicação e constantes orações.

Ao meu orientador Mario Tommasiello Filho pela oportunidade, confiança e por todo aprendizado.

Ao pesquisador Gilles Chaix por sua confiança, por compartilhar seu vasto conhecimento e por sua dedicação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior/CAPES e ao Conselho Nacional de Pesquisa/CNPq pelo auxílio no desenvolvimento da pesquisa.

À Empresa Futuragene/Suzano – Papel e Celulose, especialmente aos Eduardo José de Mello, Rodrigo Graça, Shinitiro Oda, Esteban González, Fernando da Silva, Ailton de Lima, Mariana Montelatto, Jose Mateus Gonsalves e Carla de Souza.

À Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/USP e ao Programa de Pós–Graduação em Recursos Florestais pela oportunidade de desenvolvimento da pesquisa e formação acadêmica.

Ao Professor Hilton Thadeu Zarate Couto do Departamento de Ciências Florestais pelo auxílio nas análises estatísticas.

Á Maria Bermudez pelo dedicado trabalho auxiliando nas análises anatômicas, por sua atenção e momentos de descontração.

Ao Aparecido Candido Siqueira pelo apoio nas atividades do campo, preparo das amostras e por sua amizade.

À Mariana Pires Franco por toda ajuda, conversas e sua amizade.

Ao Tassio Trevisor por seu auxílio e suporte nas análises microscópicas da anatomia da madeira.

Á todos os companheiros do Laboratório de Anatomia e identificação da madeira: Alci Albiero, Alisson Rangel, Alejandro Venegas, Angel Boschiero, Claudio Anholeto, Fernanda Guedes, Ivanka Rosada, José Luis Marcelo, Luciana Sousa, Luiz Santini, Mariana Pires Franco, Matheus Chagas, Raquel Medeiros, Roger Chambi, Samara Franzol, Tassio Trevisor e a Vinícius Castro.

As companheiras de casa: Eimi Arikawa, Dayana Sousa e Bianca Carbogim por todos os momentos de descontração e amizade.

Em homenagem ao Dr. Eugênio César Ulian (*in memorian*) por seu ineditismo, visão de futuro, comprometimento e estratégica contribuição no desenvolvimento das primeiras plantas de eucalipto geneticamente modificadas.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar, mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

SUMÁRIO

RESUMO 11
ABSTRACT 13
LISTA DE FIGURAS 15
LISTA DE TABELAS 17
1 INTRODUÇÃO 19
2 OBJETIVOS 21
2.1 Objetivo geral 21
2.2 Objetivos específicos 21
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23
3.1 Plantações florestais e o gênero *Eucalyptus* 23
3.2 Melhoramento genético 25
3.3 Transformação genética das árvores 26
3.4 O lenho juvenil no tronco das árvores: fundamentos e caracterização 30
3.5 Propriedades do lenho do tronco das árvores por métodos não-destrutivos 31
3.5.1 Caracterização anatômica do lenho do tronco das árvores de folhosas 32
3.5.2 A densidade do lenho do tronco das árvores 34
3.5.3 Aplicação da densitometria de raios X na avaliação do lenho das árvores 35
3.6 A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) fundamentos básicos 36
3.7 Aplicação do NIR na avaliação das propriedades do lenho das árvores 37
4 MATERIAL E MÉTODOS 41
4.1 Área experimental 41
4.2 Delineamento experimental e tratamentos 41
4.3 Instalação da experimentação de campo 42
4.4 Coleta e preparo das amostras do lenho das árvores de eucalipto 43
4.5 Caracterização da estrutura anatômica do lenho das árvores de eucalipto 43
4.6 Densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto por raios X 45

4.7 Uso da espectroscopia NIR na avaliação das propriedades da madeira 47

4.8 Caracterização química do lenho das árvores de eucalipto 47

4.9 Análises estatísticas 49

4.10 Análise Multivariada dos dados NIR 49

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 51

5.1 Caracterização anatômica do lenho das árvores de eucalipto 51

5.1.1 Avaliação das dimensões e qualidade das fibras 51

5.1.2 Índice de qualidade das fibras 54

5.1.3 Avaliação da frequência e diâmetro tangencial do lenho das árvores de eucalipto 56

5.2 Avaliação da densidade aparente do lenho do lenho das árvores de eucalipto por densitometria de raios X 61

5.3 Avaliação dos modelos NIR para as propriedades do lenho das árvores de eucalipto 68

5.3.1 Avaliação da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto 68

5.3.2 Avaliação das propriedades anatômicas do lenho das árvores de eucalipto ... 73

5.3.3 Avaliação das propriedades químicas do lenho das árvores de eucalipto por espectroscopia NIR 75

5.4 Caracterização química do lenho das árvores de eucalipto 78

6 CONCLUSÕES 81

REFERÊNCIAS 83

ANEXO 95

RESUMO

Avaliação da qualidade do lenho de árvores de *Eucalyptus* geneticamente modificadas

Este estudo tem como objetivo analisar a qualidade do lenho das árvores de eucalipto geneticamente modificadas e seus respctivos controles (clones convencionais). Foram selecionadas 70 árvores de eucalipto, ao 12º mês de 14 tratamentos (10 eventos modificados e 4 clones convencionais) representando 5 árvores/tratamento. As amostras do lenho foram coletadas do tronco das árvores com sonda de Pressler para análise das suas características anatômicas, densidade aparente do lenho (microdensitometria dos raios X) e propriedades químicas (espectroscopia no infravermelho próximo). As propriedades anatômicas e a densidade aparente do lenho indicaram poucas diferenças significativas entre as árvores dos tratamentos. Nas análises da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) foram encontrados modelos satisfatórios para a densidade aparente do lenho, a fração parede e para o teor de celulose. O lenho das árvores dos eventos modificados e dos clones convencionais mostrou pequenas diferenças nas características anatômicas e físicas, sendo caracterizado como lenho juvenil; assim as árvores devem ser analisadas em idades mais avançadas, com lenho de transição e adulto. Os resultados constituem-se parte da análise das árvores de eucalipto geneticamente modificadas, subsidiando os estudos genéticos visando obter altos níveis de produtividade.

Palavras-chave: Eucalipto geneticamente modificado; Qualidade do lenho; Raios X; Espectrocopia NIR

ABSTRACT

Evaluation of wood quality of genetically modified *Eucalyptus* trees

This study aims to analyze the quality of the wood of genetically modified eucalyptus trees and their respective controls (conventional clones). 70 eucalyptus trees were selected at 12 months of 14 treatments (10 modified events and 4 conventional clonesl) representing 5 trees / treatment. The wood samples were collected of the trunk of the eucalyptus trees with Pressler increment borer for the analysis of their anatomical features, density of wood (microdensitometry of X-rays) and chemical properties (near infrared spectroscopy). The anatomical properties and wood density of eucalypts trees showed few significant differences between treatments. In the analysis of near infrared spectroscopy (NIR) have been found satisfactory models for the apparent density of the wood, the wall portion and the cellulose content. The wood from the trees of the modified events and conventional clones showed small differences in the anatomical and physical characteristics, being characterized as juvenile wood; so the trees must be analyzed at older ages, with wood transition and adult. The results are a part of the analysis of genetically modified eucalyptus trees, supporting genetic studies to obtain high levels of productivity.

Keywords: Transgenic *Eucalyptus*; quality; X-ray; Near infrared spectroscopy

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição das plantações florestais no Brasil, por estados em 2014 23
Figura 2 - Ocorrência natural do gênero *Eucalyptus* 24
Figura 3 - Modificação dos componentes da parede celular das plantas: a construção genética dá-se pela modificação de uma proteína da parede celular, um promotor específico do desenvolvimento e uma sequencia de sinais na parede celular. Posteriormente, há a integração do gene modificado no genoma por meio da transformação. A proteína é, então, expressa e secretada na parede celular 29
Figura 4 - Estrutura do lenho do caule de árvore adulta, evidenciando (A) alburno e cerne e (B) lenho juvenil e adulto 31
Figura 5 - Seção transversal do lenho do tronco de árvore de eucalipto, evidenciando os tipos de células constituintes de sua estrutura anatômica microscópica 33
Figura 6 - Espectro eletromagnético com a região do infravermelho- infravermelho próximo, médio e longo 36
Figura 7 - Localização do município de Angatuba, no estado de São Paulo. 41
Figura 8 - Aspecto geral da plantação experimental das árvores de eucalipto, com (A) 24 meses e (B) 36 meses 42
Figura 9 - Equipamento de densitometria de raios X, QTRS-01X (A); interface do programa utilizado na leitura da densidade aparente da amostra do lenho (B) 46
Figura 10 - Equipamento de raios X Faxitron e câmara de irradiação (A,B); imagem digital de alto contraste de amostra diametral do lenho de árvore de eucalipto (C).....46
Figura 11 - Preparo das amostras do lenho das árvores de eucalipto. (A) amostra do lenho na encaixada na reentrância do suporte de madeira; (B,C) seccionamento transversal da amostra do lenho em equipamento de serra circular e as duas seções do lenho cortadas; (D,F) amostra do lenho para a análise da estrutura anatômica fixada em suporte de madeira; (E,G) moagem da amostra do lenho em moinho e armazenamento em frasco de vidro 48

Figura 12 - Seção transversal do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês. A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, referentes aos tratamentos 15; 16; 17; 24; 30; 47; 52; 64; 92; 93; 94; 130; 138; 145, respectivamente. (2,5 e 10x) 58
Figura 13 - Perfil radial da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto. (i) modelo de variação A; (ii) modelo de variação B da densidade 65
Figura 14 - Perfil radial da densidade aparente e imagem obtida do equipamento de raios-x digital do lenho no DAP das árvores de eucalipto, ao 12º mês, por tratamento. 67
Figura 15 - Espectros do lenho das árvores de eucalipto, de todos os tratamentos, pela espectroscopia NIR visando a determinação da densidade aparente do lenho. (A) espectros brutos, (B) espectros com pré-tratamentos: SNV e 1ªderivada 69
Figura 16 - Análise dos componentes principais (PC1 e PC2) dos espectros NIR do lenho em relação à densidade aparente. O número representa o evento ou clone convencional; as cores separam os grupos de comparação. .. 70
Figura 17 - Relação do valor da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto: mensurados e preditos 72
Figura 18 - Relação entre os valores mensurados e preditos para os parâmetros Fração parede (acima) e Índice de enfeltramento (abaixo) das fibras do lenho das árvores de eucalipto 75
Figura 19 - Relação do valor mensurado e predito do teor de lignina total (A) e de celulose (B) do lenho das árvores de eucalipto 77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicação do NIR: parâmetros de qualidade da madeira de eucalipto e referências bibliográficas 40
Tabela 2 - Descrição dos híbridos de eucalipto correspondentes de cada tratamento/evento. 42
Tabela 3 - Comprimento, largura, espessura da parede e diâmetro do lume médio das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês 51
Tabela 4 - Comprimento, largura, espessura da parede e diâmetro do lume médio das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, por grupo de comparação 52
Tabela 5 - Comprimento, largura, espessura da parede e diâmetro do lume das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, em relação aos componentes dos grupos de comparação 53
Tabela 6 - Fração parede, coeficiente de flexibilidade, índice de enfeltramento e de Runkel médio das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, em relação 55
Tabela 7 - Frequência e diâmetro tangencial médio dos vasos do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, dos eventos e clones comerciais 57
Tabela 8 - Frequência e diâmetro tangencial médio dos vasos no lenho das árvores de eucalipto ao 12º mês, nos grupos de comparação 59
Tabela 9 - Frequência e diâmetro tangencial dos vasos no lenho das árvores de eucalipto ao 60
Tabela 10 - Densidade aparente média, máxima e mínima, em g/cm³, do lenho das árvores de eucalipto, aos 12 meses de idade 62
Tabela 11 - Densidade aparente média, mínima e máxima do lenho das árvores de eucalipto ao 12º mês em grupos de comparação 63
Tabela 12 - Densidade aparente média, mínima e máxima do lenho das árvores de eucalipto ao12º mês em grupos de comparação 64
Tabela 13 - Determinação da densidade aparente média do lenho das árvores de eucalipto: geral dos tratamentos e a estatística do conjunto das amostras do lenho 69

Tabela 14 - Dados da calibração e da validação cruzada com os espectros NIR para a predição da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos 71
Tabela 15 - Dados da calibração e da validação cruzada com espectros NIR para a predição das propriedades anatômicas do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos..... 73
Tabela 16 - Dados da calibração e da validação cruzada com os espectros NIR para predição das propriedades anatômicas do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos..... 74
Tabela 17 - Determinação do teor de lignina total e da celulose do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos e a estatística do conjunto de amostras do lenho e o pré-tratamento espectral 76
Tabela 18 - Dados obtidos na calibração e validação cruzada com espectros NIR para predição das propriedade químicas do lenho 76
Tabela 19 - Valor médio da lignina solúvel, lignina total e celulose do lenho das árvores de eucalipto dos eventos e dos clones comerciais, no 12º mês .. 79

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, as plantações florestais são basicamente constituídas por espécies, híbridos e clones de *Eucalyptus* spp e de *Pinus* spp, com extensas áreas plantadas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Rio Grande do Sul e Paraná (MORA; GARCIA, 2000). O segmento industrial-florestal no Brasil contribui no âmbito social com 4,23 milhões de empregos diretos e indiretos; no âmbito ambiental, preservando as matas nativas com a implantação dos florestamentos e reflorestamentos – 1 ha de floresta plantada equivale a 10 ha de vegetação nativa preservada – e, no âmbito econômico, participa com 1,1% do PIB, crescimento de 1,7% e 17 vezes maior que o PIB brasileiro (0,1%) demonstrado a importância do setor para a economia nacional (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF, 2013; INSTITUTO BRASILEIRO DE ÁRVORES - IBÁ, 2015).

O consumo de madeira de árvores plantadas em 2014 foi de 190,03 milhões de metros cúbicos (IBÁ, 2015. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2010), há cerca de 4 bilhões de hectares cobertos com floresta, o que representa 27% da área das terras emersas do mundo (SILVEIRA, 2013). Segundo Häggman (2013), as florestas são vitais para o mundo e estão sofrendo intensa pressão devido ao aumento da demanda de madeira e de seus produtos, a conversão de terras e degradação, e as alterações climáticas que podem afetar de forma drástica as florestas.

O aumento da demanda de madeira se dá pelo crescimento da população mundial. Segundo a FAO (2010), a utilização de madeira em todo mundo aumentou de 2,9 milhões de m³ em 1980 para 3,4 milhões de m³ em 2010 e há uma tendência do aumento desse número nos próximos anos. Mello (2015) indica que a melhor opção para o atendimento do aumento da demanda da madeira consiste na intensificação da produção de madeira por área e, assim, melhorar a utilização dos recursos naturais.

A incorporação de métodos para o cultivo de árvores altamente produtivas, incluindo o emprego da engenharia genética (GE) apresenta um forte potencial visando produzir mais madeira em menos área (MELLO, 2015). A modificação genética é uma ferramenta de grande potencial para as espécies vegetais, essa tecnologia baseia-se na transferência de material genético (DNA) para uma célula

vegetal-alvo, que seja, adicionado e expresso de forma estável no seu genoma (BRASILEIRO; DUSI, 1999).

O setor de papel e celulose no Brasil, inclui-se o setor florestal-industrial apresenta grande interesse nas pesquisas de árvores geneticamente modificadas utilizando, especificamente, as árvores das espécies de *Eucalyptus*, com o intuito de obter árvores com alto incremento volumétrico de madeira e melhor qualidade, maior % de celulose e menor % de lignina, resistentes ao ataque de insetos e fungos, à seca e às baixas temperaturas (LUCAS, 2011).

A produção e introdução no mercado das plantas geneticamente modificadas (GM) ainda levanta questões sobre segurança ambiental e alimentar humana e animal. Nicolia et al. 2013 revisaram os trabalhos publicados sobre plantas modificadas dos últimos 10 anos e chegaram a conclusão que não foram detectados quaisquer riscos significativos de relação direta a utilização de culturas GM ainda, inferiram que o número de estudos abordando a rastreabilidade dos transgene e o fluxo gênico aumentou nesses últimos anos.

Ainda, cientistas ganhadores do prêmio Nobel assinaram uma carta afim de cessar esforços para barrar a introdução dos GMs. Acredita-se que a engenharia genética deve ser considerada uma importante opção nos esforços para enfrentar suprir a demanda por alimentos em face das mudanças climáticas além do melhor uso da água, fertilizantes, solo e manejo das culturas, especialmente, em países em desenvolvimento (KLÜMPER e QAIM, 2014; ACHENBACH, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi caracterizar a qualidade do lenho de árvores de eucalipto geneticamente modificadas (OGM) em relação às árvores controle (clones convencionais).

2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos, do presente trabalho, têm-se (i) avaliação das características anatômicas – dimensões das fibras e dos vasos; (ii) determinação da densidade aparente do lenho pelo método da microdensitometria de raios-X; (iii) determinação de modelos de avaliação pela espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) para a densidade aparente, qualidade da madeira e química da madeira e (iv) avaliação das características químicas do lenho das árvores de eucalipto geneticamente modificadas e controle.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Plantações florestais e o gênero *Eucalyptus*

Segundo a FAO (2013) a área ocupada por florestas no mundo é de mais de 4 bilhões de ha, representando 31% da área terrestre e possui uma relação de 0,6 ha per capita com a população humana. O Brasil ocupa a 2ª colocação entre os cinco países com florestas mais exuberantes, os quais são responsáveis por mais da metade das áreas florestadas do planeta.

No Brasil, a área total das plantações florestais em 2014 foi de 7,74 milhões de ha, um aumento de 1,8% em relação ao ano de 2013. As principais espécies plantadas são dos gêneros *Eucalyptus* (71,9%) (Figura 1) e de *Pinus* (20,5%). O Brasil se encontra em 4° lugar dos países produtores mundiais de celulose, com a produção nacional de 16,46 milhões de toneladas, 8,8% maior do que a de 2013, e a produção de papel de 10,40 milhões de toneladas em 2014 (IBÁ, 2015).

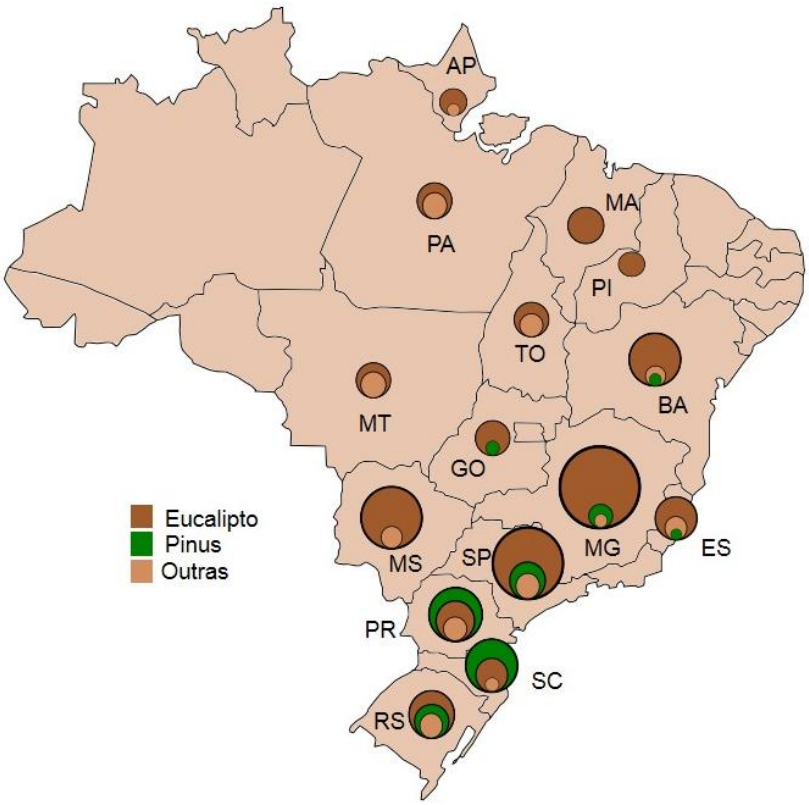


Figura 1 - Distribuição das plantações florestais no Brasil, por estados em 2014
Fonte: IBÁ (2015)

Com centro de origem na Austrália, o gênero *Eucalyptus* também ocorre naturalmente na Indonésia e na Nova Guiné (Figura 2). Na ilha austral, as árvores de eucalipto compõem a vegetação arbórea predominante, com formações florestais heterogêneas apresentando diversos padrões de distribuição e fisionomias. O gênero *Eucalyptus* pertence à família Myrtaceae e conta com cerca de 600 espécies e grande número de variedades e híbridos (LIMA, 1996).

Figura 2 - Ocorrência natural do gênero *Eucalyptus*
(Adaptado: <http://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Eucalyptus_distribution_maps)

Os estudos experimentais com as espécies de *Eucalyptus* no Brasil, iniciaram-se por volta de 1903, após a introdução de árvores de algumas espécies do gênero e a expansão das plantações por Edmundo Navarro de Andrade na Companhia Paulista de Estradas de Ferro. Em função da diminuição da área de florestas nativas, o gênero *Eucalyptus* foi considerado como a principal espécie para o suprimento de madeira, principalmente, para a utilização como lenha e carvão (ANDRADE, 1961; MARTINI, 2008)

As características como as árvores de rápido crescimento, plantações de alto rendimento e curta rotação, adaptação a ambientes edafo-climáticos diversos e qualidade e propriedades da madeira indicam os *Eucalyptus* como alternativa para o atendimento da crescente demanda da madeira, bem como para diminuir a pressão sobre as matas nativas. O aprimoramento do conhecimento sobre as árvores das espécies do gênero são de importância para a otimização do uso dos produtos da

madeira, suas propriedades tecnológicas e aplicações (TEULIERES, 1994; ALZATE, 2004; GIRJASHANKAR, 2011).

O Brasil destaca-se na produção de celulose e papel utilizando a madeira de fibras curtas do lenho das árvores de eucalipto, relacionadas com as características anatômicas, físicas e químicas, além da taxa de crescimento volumétrico das árvores (GIRIJASHANKAR, 2011; TEULIERES, 1994). A Associação Brasileira de Celulose e Papel - BRACELPA (2014) indica que o país é o maior produtor mundial de fibra curta branqueada, o quarto produtor mundial de celulose (13,9 milhões de ton) e o nono na produção de papel (10,2 milhões de ton). No segmento industrial florestal, 72,5% da área total plantada de *Eucalyptus* é destinada à produção de papel e celulose (ABRAF, 2013).

Segundo Leite (2014) as árvores de *Eucalyptus grandis, E. urophylla, E. saligna* e seus híbridos plantadas no país têm sua madeira utilizada, principalmente, na indústria de celulose e papel, siderurgia, manufatura de painéis e produção de carvão vegetal. A madeira das árvores de eucalipto encontra-se integrada aos pólos florestais e industriais nas regiões sul e sudeste e, mais recentemente, nas regiões do centro-oeste do país (STAPE, 1996 Apud NISGOSKI, 1998).

3.2 Melhoramento genético

O melhoramento genético clássico a partir de uma população-base aplica o processo de seleção das árvores em diferentes intensidades. Essa população de árvores selecionadas será utilizada para a produção de sementes ou de mudas clonais, além de ser empregada na recombinação genética em novos cruzamentos (RESENDE, 1999). As estratégias que envolvem essa metodologia clássica estão relacionadas ao controle dos processos de polinização e de fecundação devido à complexidade na análise dos descendentes, além da necessidade de uma grande área de plantação experimental. Esses fatores podem inibir os programas de melhoramento genético, além da necessidade de um longo período para que as árvores atinjam a maturidade reprodutiva e fenotípica (TZFIRA et al., 1998).

Por outro lado, o melhoramento pode ser conduzido com o auxílio de marcadores moleculares para à identificação dos genes, conhecimento da variabilidade genética, certificação da pureza genética, construção de mapas gênicos ao mapeamento de *locus* de características quantitativas (QTLs) e, ainda, à

predição dos ganhos esperados e a seleção genética assistida (FERREIRA; GRATTAPALGIA, 1998).

A seleção genética assistida por meio de marcadores (SAM) apresenta grande interesse na área de silvicultura e manejo florestal, promovendo a aceleração dos programas de melhoramento nas suas fases iniciais, o que, geralmente, não é possível quando são avaliados os caracteres morfológicos das árvores (DOMINGUES et al., 2006).

Atualmente, além da seleção genética assistida por marcadores moleculares, tem sido empregada a seleção genômica ampla (GWS), fundamentada no uso de marcadores do tipo polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP), os quais resultam da alteração de um único par de bases, sendo esta a forma mais abundante de variação do DNA. Os SNPs podem ser utilizados para cobrir o genoma de uma árvore (RESENDE et al., 2008).

Segundo Tzfira et al. (1998) os programas de melhoramento genético possuem como alvo a melhoria da qualidade da madeira, uma vez que se trata do principal alvo da colheita e do produto florestal. Geralmente, esses programas compreendem as modificações das características anatômica, físicas, químicas e mecânicas do do lenho do tronco das árvores, aumentando o seu crescimento volumétrico e modificando a sua forma; nesse aspecto, é necessário e importante incluir as melhorias no desempenho do sistema radicular e da copa das árvores, além da sua resistência às doenças e pragas e a tolerância aos estresses abióticos.

3.3 Transformação genética das árvores

As árvores geneticamente modificadas apresentam, ainda, grandes desafios para a Engenharia Genética (GIRIJASHANKAR, 2011). A partir da transgenia, os estudos complementares como a análise funcional dos genes podem ser desenvolvidos, abordando fases específicas do crescimento e desenvolvimento das árvores. Com o advento de novas técnicas moleculares *in vitro* e da transformação genética, se tornaram cada vez mais acessíveis os estudos da biologia vegetal em plantas lenhosas perenes como, por exemplo, as árvores das espécies de *Eucalyptus* (SPOKEVICIUS et al., 2007).

A possibilidade da síntese ou da criação das árvores geneticamente modificadas surgiu com o desenvolvimento da tecnologia genômica e da

compreensão do genoma das plantas, sendo que a inserção dos novos genes pode resultar em melhoria na quantidade e qualidade da madeira, na resistência aos estresses bióticos e abióticos e, possivelmente, como processo com mais eficiência do que o melhoramento genético tradicional (KOEHLER; TELEWSKI, 2006).

A transferência de material genético é feita para uma célula-alvo de tal forma que o DNA torna-se incorporado e expresso no seu genoma, tendo como principais métodos de transformação a biobalística e o uso da *Agrobacterium tumefaciens*, embora existam outras técnicas (BRASILEIRO; DUSI, 1999).

O sucesso da transformação genética depende da inserção de um material genético no tecido vegetal e posteriormente a regeneração dos tecidos em novas plantas capazes de expressar esse novo gene de uma maneira estável. O sucesso operacional requer domínio das muitas etapas do processo laboratorial, avaliação dos testes e genótipos superiores advindos dos programas de melhoramento, o qual pode ser clonado com confiança em larga escala.

Com a regeneração *in vitro* dessas células inicialmente transformadas dá-se a origem de uma planta geneticamente modificada contendo a nova informação genética. Assim, a transformação pode auxiliar nos programas de melhoramento genético pela introdução de uma nova característica ou a alteração de uma já existente, em cultivares ou genótipos já melhorados, não modificando a estrutura genética da planta. As plantas geneticamente modificadas são, também, importantes ferramentas para os estudos moleculares de função e expressão dos genes, dos processos fisiológicos e do desenvolvimento vegetal (HANSEN; WRIGHT, 1999).

A utilização da biotecnologia no setor florestal é importante para o melhoramento genético, contribuindo para os ganhos em produtividade e sustentabilidade. Uma ferramenta do melhoramento genético é a transformação genética, possibilitando a produção de organismos geneticamente modificados e que podem ser introduzidos nas práticas silviculturais, a fim de se agregar benefícios às culturas florestais, como a melhoria na taxa de crescimento volumétrico, na forma do tronco, nas propriedades anatômicas, químicas e físicas da madeira, etc. (VALENZUELA; BALOCCHI; RODRÌGUEZ, 2004).

A transformação genética é uma alternativa para diminuir o tempo de obtenção dos clones melhorados. O princípio dos estudos com organismos geneticamente modificados possibilita a obtenção do mesmo clone com apenas uma ou algumas características melhoradas, não sendo necessária a realização de

cruzamentos e de retrocruzamentos. Ainda, os projetos visando o isolamento dos genes de interesse, que confiram características superiores às plantas transgênicas, vêm sendo realizados em paralelo (DEGENHARDT, 2014).

A FuturaGene, empresa de biotecnologia da Suzano Papel e Celulose iniciou em 2001 as pesquisas com estudos de eucaliptos geneticamente modificados. Os experimentos com organismos geneticamente modificados no Brasil em condições de laboratório e/ou de campo, necessitam de autorização da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), regida pela Lei de Biossegurança n° 11.105/2005, que visa a prestação de apoio técnico na implementação da Política Nacional de Biossegurança dos organismos geneticamente modificados.

Segundo Mello (2016) os estudos de biossegurança incluem a avaliação da composição, degradação, interações ecológicas, fluxo gênico, além dos estudos com as abelhas, pólen e mel, toxicidade, entre outros. Os resultados desses estudos, publicados na Proposta de Liberação Comercial do Eucalipto Geneticamente Modificado – Evento H421, disponível no site da CTNBio demonstraram que, no enfoque ambiental e da saúde humana e animal, o eucalipto GM é análogo ao convencional (BRASIL, 2014).

A transformação dos eventos (Figura 3) foi realizada a partir da expressão de proteínas de dois organismos modelos, *Arabidopsis thaliana* e *Escherichia coli.* A planta *Arabidopsis thaliana* é considerada como espécie modelo estudado para o entendimento do processo ou do fenômeno biológico e, da mesma forma, para o desenvolvimento de técnicas e identificação de genes; com a bactéria *Escherichia coli* sendo o primeiro organismo modelo utilizado em biologia molecular. A escolha de um organismo modelo é baseada em um curto tempo de geração, tamanho reduzido, fácil manipulação e pequeno genoma (DELATORRE; SILVA, 2008).

A proteína expressa nas plantas de *Arabidopsis thaliana* atua nas cadeias das moléculas de celulose da parede celular das fibras resultando em ganho de biomassa de cerca de 20% em relação às plantas convencionais, segundo Pasquali (2015). A proteína neomicina-fosfotransferase bacteriana, oriunda da *Escherichia coli*, quando expressa confere a resistência aos antibióticos derivados da neomicina, importante para a geração e seleção das plantas GM em laboratório (BRASIL, 2014).

Segundo Labra (2004) uma vantagem no estabelecimento da planta de *A. thaliana* como espécie modelo é a maneira eficiente da transformação genética com

Agrobacterium tumefaciens, uma bactéria do tipo bacilo aeróbica gram-negativa, que vive em associação com a rizosfera.

A colonização das plantas pela bactéria demanda a transferência de genes dos plasmídeos para o seu genoma, processo chamado de engenharia genética natural de transferência de genes entre dois reinos diferentes. Dessa forma, o T-DNA, ou a região do plasmídeo que será transferida ao núcleo da célula hospedeira e a região *vir* onde estão os genes que codificaram proteínas essências à transferência, essas são as regiões mais importantes para o processo (GONZÀLEZ, 2002; BRASILEIRO; LACORTE, 2000).

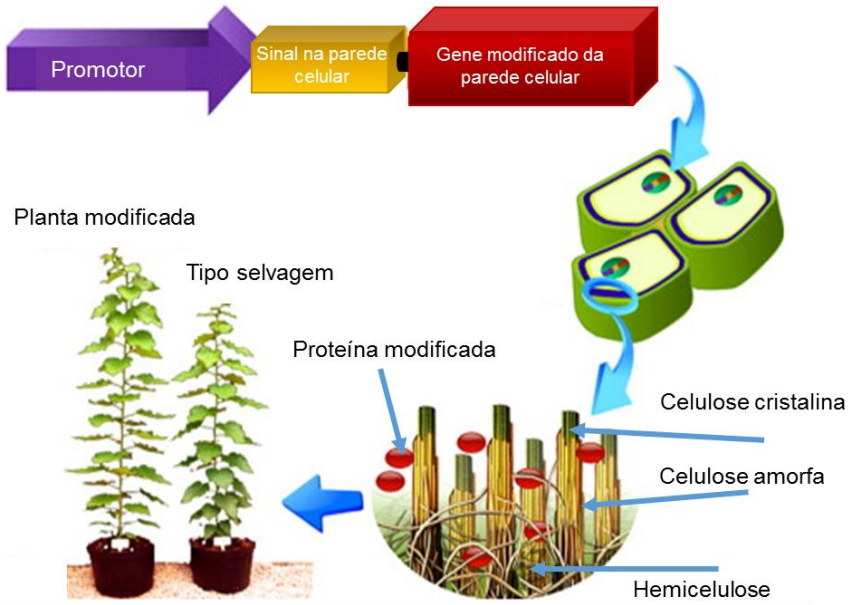


Figura 3 - Modificação dos componentes da parede celular das plantas: a construção genética dá-se pela modificação de uma proteína da parede celular, um promotor específico do desenvolvimento e uma sequencia de sinais na parede celular. Posteriormente, há a integração do gene modificado no genoma por meio da transformação. A proteína é, então, expressa e secretada na parede celular

Fonte: Abramson et al. (2010).

Strauss (1999) cita que os experimentos de campo são essenciais para uma correta análise comportamental das árvores ainda, indica formas de mitigar os impactos, como a rastreabilidade dos genes adicionados e sistemas de regulação gênica; análise dos programas de manutenção de resistência nas árvores às pragas e doenças e utilização de técnicas de transformação que não afetem a diversidade genética.

Devido às dificuldade encontradas no melhoramento genético convencional, a aplicação da engenharia genética (GE) pode trazer mais vantagens para árvores perenes do que nas culturas anuais. Dentre as características que podem ser melhoradas estão, a qualidade da madeira, problemas com pragas, melhor crescimento e adaptação em um cenário de mudanças climáticas, principalmente nos países em desemvolvimento.

As barreiras que as plantas GM ainda enfrentam são, a aceitação pública a produção desses plantas e o sistema de regulametação comercial. Nesse aspecto, autores como Nicolia et al.(2013) fizeram um estudo de todas as publicações dos últimos 10 anos com organismos GMs e não detectaram riscos diretos com as plantas GM. Klümper e Qaim(2014) estudando culturas GM tolerantes a herbicidas e insetos e concluiram que há evidências de benefícios dos GM o que pode auxiliar no aumento da confiança pública.

Ainda, há pouca atividade comercial para GM de espécies arbórea, nos EUA e China há liberação comercial para tipos de álamos modificados e, em 2015, o primeiro eucalipto geneticamente modificado obteve a liberação comercial na CTNBio, no Brasil, representando um marco para a biotecnologia no país e no mundo .

3.4 O lenho juvenil no tronco das árvores: fundamentos e caracterização

Com a diminuição da oferta de árvores com troncos de maiores diâmetros para as indústrias do setor madeireiro-florestal houve a necessidade da implantação de povoamentos florestais de alta produtividade, com a exploração de ciclos curtos para suprir a demanda crescente de madeira com características intrínsecas de lenho juvenil e que, por sua vez, podem comprometer a qualidade do produto final (BENJAMIN, 2006; VIDAURRE et al., 2011).

Os trabalhos sobre o lenho juvenil no tronco das árvores de rápido crescimento das plantações jovens de eucalipto indicam a formação de madeira de qualidade inferior e em maior proporção (BALLARIN; LARA PALMA, 2004). O lenho do tronco de árvores adultas é caracterizado, segundo Panshin e De Zeeuw (1980) por duas regiões fundamentadas nas diferenças de estrutura e propriedades sendo, a interna de lenho juvenil (coluna cilindrica de lenho da base até o ápice do tronco) e a externa de lenho adulto (região envolvendo o lenho juvenil) (Figura 4). A madeira

juvenil nas árvores adultas ocupa a região próxima à medula, sendo referida como madeira associada à medula ou madeira da copa da árvore e que, geralmente, apresenta menor densidade da madeira, fibras mais curtas, menor teor de celulose quando comparada à madeira adulta (JOZSA; MIDDLETON, 1994).

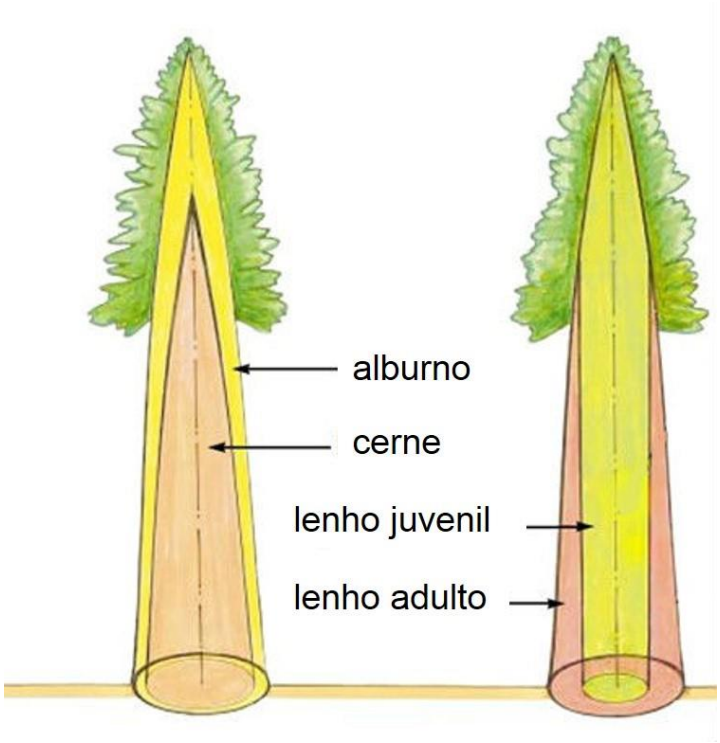


Figura 4 - Estrutura do lenho do caule de árvore adulta, evidenciando (A) alburno e cerne e (B) lenho juvenil e adulto
Adaptado: Jozsa e Middleton (1994)

Com o crescimento e o desenvolvimento do tronco das árvores ocorre uma diminuição do gradiente de variação do lenho juvenil-adulto pelas suas características anatômicas, físicas e químicas, verificando-se o aumento da sua densidade e do comprimento das fibras (TRUGILHO, 1996). Tomazello Filho (1987) e Malan (1995) citam que nas árvores das plantações de rápido crescimento o lenho juvenil ocorre em maior porcentagem sendo de grande importância para a avaliação da qualidade tecnológica da madeira e dos seus produtos.

3.5 Propriedades do lenho do tronco das árvores por métodos não-destrutivos

A caracterização das propriedades do lenho pela aplicação de métodos destrutivos consiste na amostragem pela derrubada e seccionamento do tronco das

árvores, com as seções do lenho analisadas em laboratório (OLIVEIRA et al., 2011). Por outro lado, na avaliação das propriedades do lenho pela aplicação de métodos não-destrutivos, prescinde-se do corte do tronco das árvores para a avaliação das propriedades do lenho, com os resultados das análises utilizados na avaliação do uso final da madeira (ROSS, 1998). A literatura relata inúmeras metodologias e técnicas de análise do lenho classificadas como não-destrutivas como, por exemplo, a microdensitometria de raios X, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), entre outras.

Segundo Oliveira et al. (2011) a confiabilidade dos resultados obtidos pela aplicação dos métodos não destrutivos depende do ajuste prévio da técnica, dos objetivos e dos equipamentos utilizados, permitindo predizer as propriedades do lenho, aplicando como suporte os modelos estatísticos.

Para uma eficiente avaliação da qualidade do lenho preconiza-se uma intensiva amostragem do tronco dentro e entre árvores, o que implica em maior demanda de tempo e de custos. Alternativamente, os métodos não destrutivos podem ser utilizados com sucesso, com a redução do tempo e dos custos experimentais, desde que aplicada uma representativa amostragem do lenho e a existência de alta correlação entre a região do tronco amostrada e a propriedade do lenho a ser avaliada (DOWNES et al., 1997).

3.5.1 Caracterização anatômica do lenho do tronco das árvores de folhosas

Segundo Zobel e Buijtenem (1989) a madeira é um material heterogêneo e variável, com suas propriedades variando entre e dentro das árvores e nos sentidos longitudinal e radial do seu tronco. As características anatômicas do lenho variam significativamente no tronco das árvores, com a idade das árvores e as práticas silviculturais sendo controladas geneticamente e pelo ambiente. Nesse aspecto, o comprimento das células do lenho define as fases da xilogênese: na fase inicial, constitui-se o lenho juvenil, envolvendo a região da medula, seguindo-se mudanças fundamentais no meristema cambial que originam o lenho adulto, na fase seguinte, com aumento das dimensões das células (PANSHIN; DE ZEEUW, 1980; TSOUMIS, 1991).

No lenho do tronco das árvores de folhosas, segundo Burger e Richter (1991), as fibras são células com a função de sustentação e que constituem a sua maior

porcentagem em volume e massa (20-80%). Ainda, a espessura da parede e o volume das fibras afetam a densidade e as propriedades físico-mecânicas da madeira.

Os vasos constituem o conjunto de células sobrepostas que formam uma estrutura tubular contínua, desempenhando a função de transporte ascendente de seiva mineral, apresentando a placa de perfuração simples no lenho das árvores de eucalipto (COSTA, 2001) (Figura 5).

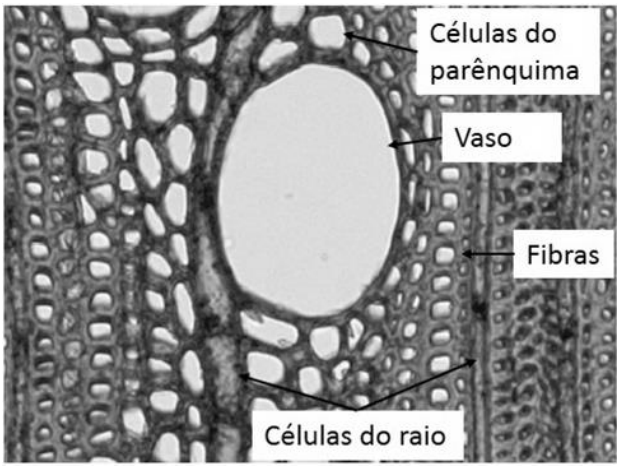


Figura 5 - Seção transversal do lenho do tronco de árvore de eucalipto, evidenciando os tipos de células constituintes de sua estrutura anatômica microscópica

Em relação às dimensões das fibras no lenho das árvores de *E. grandis*, de 5 anos, Oliveira et al. (2012) indicaram os valores de comprimento, largura, diâmetro do lume e espessura da parede de 972,8, 18,4, 11,3 e de 3,5 µm. No lenho das árvores de *E. grandis* x *E. urophylla* de 12 anos, Alzate (2004) obteve as dimensões das fibras de 1.030,0, 19,6, 9,6 e 5,0 µm para o comprimento, largura, diâmetro do lume e espessura da parede. Oliveira (1998) no lenho de árvores de *E. urophylla* com 16 anos indicou valores de 1.050,0, 18,1 e de 3,2 µm para o comprimento, largura e espessura da parede.

Por outro lado, em relação às dimensões dos vasos no lenho das árvores de *E. grandis* x *E. urophylla* de 12 anos, Alzate (2004) indicou valores de diâmetro tangencial e frequencia dos vasos de 103,6 µm e 10,5 vasos/mm². Benjamin (2006) no lenho de *E. grandis* de 28 anos indicou 121,2 e 10,9 vasos/mm^2 para o diâmetro tangencial e frequencia. De acordo com Paula (2000), as dimensões, frequência e a organização dos elementos exercem influência nas propriedades anatômicas, físicas e mecânicas da madeira, importantes para sua correta aplicação tecnológica.

3.5.2 A densidade do lenho do tronco das árvores

Por definição, a densidade do lenho é a relação entre sua massa e volume; sendo que a madeira como material higroscópico tem a sua densidade variando com o teor de umidade (POLGE, 1966; PANSHIM; De ZEEUW, 1970; AMARAL, 1994). Segundo Shimoyama e Barrichelo (1989), Wang (2009), dentre outros autores, a densidade é utilizada como indicador da qualidade e aplicação da madeira, sendo considerada em função do seu uso final (BRASIL; FERREIRA, 1979; OLIVEIRA et al., 2012).

A densidade da madeira é resultante da complexa interação dos componentes anatômicos e químicos do lenho e, assim, relacionada com as características do produto final, como a destinada para a celulose e papel, carvão, painéis, estrutura, etc. Com a determinação da densidade do lenho e da definição de sua aplicação tecnológica é possível conciliar as práticas de seleção de espécies, melhoramento genético, do manejo florestal, etc., otimizando a produtividade e a qualidade da madeira das plantações florestais (BRASIL; FERREIRA, 1979; OLIVEIRA et al., 2012).

Das propriedades do lenho, a densidade é considerada como o parâmetro que propicia relevante informação sobre as suas características e qualificação, além da alta herdabilidade importante para os programas de melhoramento genético (JORGE; PERREIRA, 1998). Vários fatores influenciam o valor da densidade do lenho do tronco das árvores, como a idade, genótipo, condições edafo-climáticas, tratamentos silviculturais, etc.: ainda, a densidade varia entre e dentro das espécies e nos sentidos radial e longitudinal do tronco das árvores (KOLLMANN; COTÊ, 1968; SILVA et al., 2004; ALZATE; TOMAZELLO FILHO; PIEDADE, 2005; SETTE JUNIOR et al., 2012).

Panshin e De Zeeuw (1980) e outros pesquisadores indicaram três padrões da variação da densidade do lenho no sentido longitudinal do tronco das árvores. O primeiro se caracteriza pelo decréscimo da densidade do lenho da base para o topo do tronco; no segundo, verifica-se o decréscimo da densidade do lenho até a metade do comprimento do tronco, aumentando até a sua extremidade; no terceiro, a densidade do lenho decresce da base para o topo do tronco. Alzate et al. (2005), Sette Junior et al. (2010, 2012), entre outros autores, mencionam que no tronco das

árvores de eucalipto, o segundo modelo constitui-se no padrão de variação da densidade do lenho mais comumente relatado.

3.5.3 Aplicação da densitometria de raios X na avaliação do lenho das árvores

A ABNT-7190 (1997) indica que a densidade aparente do lenho é a razão da massa e volume, na umidade de 12%, sendo determinada pela microdensitometria de raios X e por outros métodos.

A densitometria de raios X foi aplicada na determinação da densidade do lenho por Polge (1966) na França, radiografando amostras de baquetas do lenho (espessura, 5 mm) extraídas do tronco das árvores de árvores de espécies de regiões temperadas, pelo método não destrutivo, com o uso de sondas de Pressler.

No Brasil, foi utilizada a partir da década de 90, por Amaral e Tomazello (1994, 1998) compreendendo o escaneamento radial das amostras do lenho (1,7 mm, espessura) em um feixe colimado de raios X e determinando a sua densidade aparente média, máxima e mínima, possibilitando a qualificação de sua homogeneidade e delimitação dos anéis de crescimento.

Alguns laboratórios têm utilizado o equipamento de raios X da marca QTRS-01X que dispensa o uso de filmes radiográficos das amostras do lenho das árvores pelo escaneamento direto ao longo da sua seção transversal com feixe colimado de raios X; o valor da densidade é determinado pela razão da radiação atenuada e a que atravessa o lenho da árvore. Essa metodologia tem, também, como vantagem a excelente resolução dos perfis radiais de densidade obtidos, a rápida velocidade do processo e utilizar amostras do lenho de menor espessura (SILVA; LOUZADA, 2001).

A metodologia de micro-densidade do lenho pela atenuação dos raios X tem sido usualmente aplicada na avaliação da variação radial da densidade aparente do lenho de árvores de plantações e de populações naturais; em árvores adultas, Tomazello Filho (1985) e outros autores indicam um modelo de variação radial da densidade aparente do lenho caracterizado pelo aumento do seu valor no sentido medula-casca.

Ainda, para árvores de 24 meses de *E. grandis*, Sette Junior (2009) relatou um modelo de variação radial da densidade aparente do lenho, por densitometria de

raios X, característico da madeira juvenil, com maiores valores na região da medula e redução e estabilização próximo à casca.

A análise de árvores de eucaliptos de 8, 10 e 14 anos, realizada por Alzate (2004) e Silva et al. (2004) pela técnica da densitometria de raios X indicou valor de densidade aparente média do lenho de 0,46, 0,46 e 0,55 g/cm³, respectivamente. Ainda, Tomazello Filho (2006) e Oliveira et al. (2012) aplicando a mesma técnica na análise do lenho de árvores de *E. grandis x E. urophylla* e de *E. grandis*, de 7 e de 23 anos, obtiveram valores de 0,65 e de 0,58 g/cm³.

3.6 A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) fundamentos básicos

A metodologia da espectroscopia no infravermelho próximo-NIR foi utilizada, de forma pioneira, no início do século 19 pelo astrônomo William Herschel, sendo as primeiras análises direcionadas aos produtos agrícolas e alimentícios, além da aplicação no sensoriamento remoto. (COSTA FILHO, 2003; ACUNA; MURPHY, 2007).

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é fundamentada na aplicação da radiação eletromagnética na faixa de 750 a 2.500 nm (Figura 6) (SHEPPARD, 1985), com o espectro eletromagnético abrangendo uma ampla gama de comprimentos de onda e frequências, como as de rádio, micro-ondas, infravermelho, luz visível, raios ultravioletas, raios X e radiação gama (HEIN, 2009).

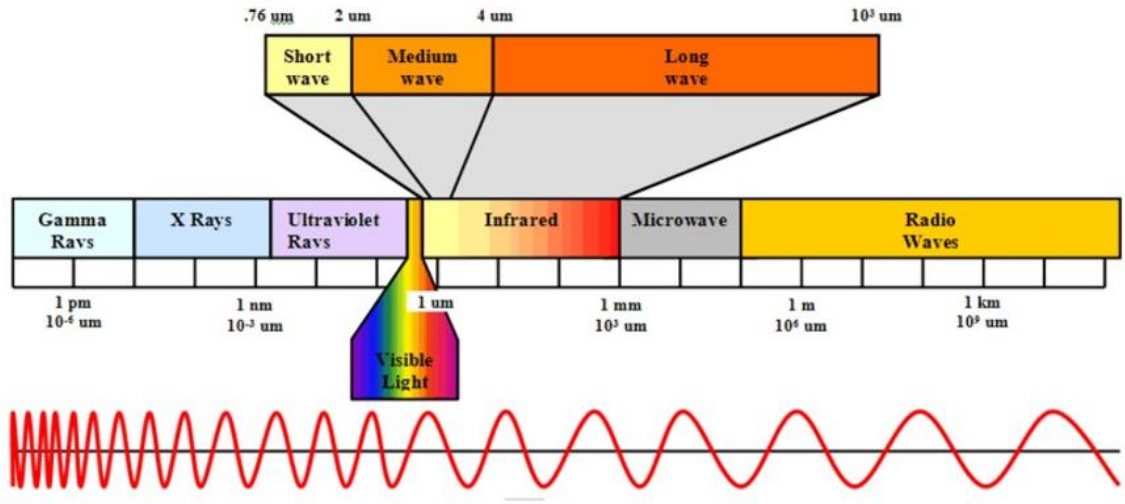


Figura 6 - Espectro eletromagnético com a região do infravermelho- infravermelho próximo, médio e longo
Fonte: http://amazonaws.com/w/images/a/a8/Infrared_SpectrumPNG

Os espectros moleculares são resultado dos movimentos periódicos vibracionais dos átomos das moléculas, com a avaliação da atividade vibracional por técnicas de espectroscopia, como a do infravermelho próximo, médio e longo (WORKMAN JR.; WEYER, 2008). O espectro na região do infravermelho próximo consiste em sobretom e vibrações de combinação das bandas dos grupos funcionais. A espectroscopia no infravermelho é utilizada na análise das substâncias orgânicas sendo absorvida por ligações químicas como C-H, N-H, O-H, C-O, C-C e S-H e resulta na sua flexão, alongamento e torção, conduzindo a padrões característicos de reflectância (BAILLÈRES, 2002; BRINKMANN, 2002; BURNS, 2008).

A espectroscopia no infravermelho próximo é uma eficiente ferramenta para propiciar informações quantitativas das propriedades químicas e físicas de biomassa (SHENK et al.,1992), com vantagem de ser um método não destrutivo, rápido, acurado e não exigindo a preparação das amostras (SCHIMLECK et al., 1999).

No processo de avaliação da qualidade do lenho das árvores jovens de eucalipto das plantações de rápido crescimento recomenda-se a aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo. Ainda, constitui-se em ferramenta para os programas de seleção precoce e de melhoramento genético para a qualidade do lenho das árvores visando a produção de celulose e papel, propiciando a redução do tempo, dos custos, além da acurácia das análises (SILVA JÚNIOR; BRAGA, 1997).

Neste sentido, preconiza-se a utilização da espectroscopia no infravermelho próximo como método analítico na análise das propriedades anatômicas, físicas e químicas do lenho e de outras partes das árvores geneticamente modificadas (YAMADA, 2006). Na literatura especializada são relacionadas inúmeras aplicações do NIR na análise das propriedades da madeira, como o teor de lignina, de celulose e de extrativos; do comprimento das fibras; da densidade e do ângulo microfibrilar (SCHIMLECK et al., 1999, 2004; SCHIMLECK; EVANS, 2002; TSUCHIKAWA, 2007, 2013, 2015).

3.7 Aplicação do NIR na avaliação das propriedades do lenho das árvores

Na avaliação rápida, segura e on-line da densidade, umidade e de outras propriedades da madeira em condições de laboratório e da indústria (ex.: esteira de cavacos de madeira) preconiza-se a utilização de várias metodologias, com

destaque para a espectroscopia no infravermelho próximo. De acordo com Gouvea (2011) as metodologias de análise da madeira e de seus produtos avaliam a homogeneidade (ex.: Densidade, umidade, etc.), recomendando-se as não destrutivas, de maior precisão e de menor custo como a espectroscopia no infravermelho próximo (MORA; SCHIMLECK, 2008).

Pela aplicação do NIR são obtidos os espectros da madeira e de seus produtos necessitando, no entanto, da utilização da análise multivariada para verificar a relação dos dados espectrais e os das análises químicas e físicas de laboratório (dispendiosas e longas) para predizer as propriedades da madeira (SO et al., 2004).

A quimiometria e os dados do NIR evoluíram para a obtenção de modelos mais robustos de identificação e determinação das propriedades da madeira permitindo, ainda, estender a sua aplicação. Assim, os dados espectrais são submetidos aos pré-tratamentos para a aplicação qualitativa e quantitativa. Esse procedimento é utilizado para a diminuição do efeito do espalhamento da luz nas amostras sólidas submetidas à refletância e para minimizar os ruídos dos espectros; como pré-tratamentos mencionam-se o *Standart Normal Variate* (SNV), primeira e segunda derivada utilizada para amenizar as bandas sobrepostas (PASQUINI, 2003).

O problema das múltiplas bandas sobrepostas, em espectroscopia, pode ser tratado através das análise multivariada e combinações lineares dos dados espectrais, como a análise de componentes principais (ACP). Conforme Manly (2005) a ACP é uma das técnicas mais utilizadas nas análises multivariadas e que gera fatores não correlacionados, cujas combinações lineares aproximam-se dos dados originais em qualquer grau desejado de precisão, são calculados componentes sucessivos o que significa que cada destes tem a quantidade máxima possível de variância residual no conjunto de dados.

Para modelar a relação dos dados espectrais e as propriedades da madeira utiliza-se a regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) podendo minimizar os erros de predição ao solucionar o problema da colinearidade e da diminuição do efeito dos ruídos. Os dados de entrada e saída da técnica PLS são dados da PCA, de forma a maximizar a covariância entre os mesmos, sendo que o modelo gerado é a relação entre as variáveis. A vantagem do método PLS constitui-se na robustez do modelo, ou seja, não ocorrem alterações com o aumento ou diminuição do número

de amostras no conjunto de calibração (HEIN, 2008). Após a calibração, é testado o modelo quanto a sua confiabilidade, chama etapa de validação que pode ser independente ou cruzada, Pasquini (2003) aponta que quando o número de amostra do material é restrito deve se empregar a validação cruzada.

Alguns critérios são utilizados na seleção dos modelos preditivos baseados no NIRS, como o coeficiente de determinação (R^2), erro padrão de previsão (SEP) ou validação cruzada (SECV) e a relação de desempenho do desvio (RPD) (HEIN, 2009). De acordo com Williams (2014) o valor do RPD deve ser 5 ou maior; sendo que para os materiais de natureza físico-química heterogênea (com a madeira, sementes, solo, etc.) pode-se considerar como excelente o valor de RDP de 4; valores entre 3 e 4 podem aplicados para o controle da qualidade e processos; entre 2,5 a 2,9 são razoáveis e menores que 1,9 não são recomendados

Ainda, Hein et al. (2009) destacam que o NIR é eficiente para estimar a densidade da madeira de *E. urophylla* e *E. grandis* indicando coeficiente de determinação dos modelos de predição de 0,74 e de 0,86 e RPD entre 1,9 e 2,7.

Segundo Fujimoto (2012) os dados espectrais NIR e as análises de regressão multivariada podem predizer a densidade da madeira com acurácia utilizando os espectros coletados em qualquer % de umidade, com vantagem na estimativa das propriedades do lenho do tronco das árvores no campo e em tempo real.

As características anatômicas da madeira podem, também, ser preditas pelo NIR e relacionadas com as propriedades químicas, sendo que na indústria de papel e celulose pode ser utilizada no monitoramento *on-line* do teor de umidade e da massa de madeira (TSUCHIKAWA 2007, 2013, 2015). Inagaki et al. (2010) encontraram modelos robustos e precisos para a estimativa do comprimento das fibras do lenho de árvores de *E. camaldulensis* com RPD de 3,5, possível de utilização nos programas de melhoramento. Schimleck e Evans (2004) e Viana (2008) encontraram para a madeira de *P. radiata* e de *Eucalyptu*s spp. modelos de predição para a espessura da parede das fibras com RPD de 1,4 a 2,7.

Os modelos NIR desenvolvidos por Pfautsch et. al. (2012) permitiram a diferenciação do cerne e do alburno no lenho do tronco de árvores de *Eucalyptus* e de *Corymbia*. Algumas pesquisas da caracterização química da madeira de eucaliptos com o NIR utilizando as análises multivariadas, como a quimiometria, são relacionadas na Tabela 1 (TSUCHIKAWA, 2007, 2013, 2015).

Tabela 1 - Aplicação do NIR: parâmetros de qualidade da madeira de eucalipto e referências bibliográficas

Parâmetro de qualidade da madeira	**Autor/referência bibliográfica**
Densidade básica de *E. globulus*	Schimleck (1999)
Lignina Klason de *E. urograndis*	Baìlleres (2002)
Razão de lignina S/G de *Pinus spp*.	Alves (2006)
Lignina Klason/cellulose de *E. globulus*	Poke e Raymond (2006)
Lignina total/celulose *Eucalyptus spp*.	Viana (2008)
Celulose de *Acacia spp*.	Yao (2012)
Extrativos de *E. globulus*.	Alves (2012)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área experimental

A área experimental foi instalada na cidade de Angatuba, localizada a 215 km de São Paulo (Figura 7). O clima é classificado como *Cfa*, temperado úmido com verão quente, precipitação anual média de 1.282,2 mm e temperatura anual média de 21°C (meses mais frios e mais quentes de 17,1 e de 24,1°C, respectivamente). O solo é classificado como latossolo vermelho-amarelo, distrófico, com textura arenosa média (GAVA, 1997).

Figura 7 - Localização do município de Angatuba, no estado de São Paulo.
Fonte: CEPAM.

4.2 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental compreende 14 tratamentos, sendo 4 clones comerciais de eucalipto (denominados tratamentos controle) e 10 tratamentos de árvores de eucalipto geneticamente modificadas (denominados eventos). Os eventos/tratamentos das árvores de eucalipto GM visam aumentar o volume de madeira (Tabela 2). Nos tratamentos/eventos foram utilizados três híbridos de eucalipto para a transformação, sendo *Eucalyptus grandis* x *E. dunnii*. *E. grandis* x *E. urophylla* clone I e *E. grandis x E. urophylla* clone II modificados via *Agrobacterium tumefaciens.* (Brasil, 2014).

Tabela 2 – Descrição dos híbridos de eucalipto correspondentes de cada tratamento/evento.

Trat. (N°)	**15**	**16**	17	**24**	**30**	47	**52**	**64**	**92**	**93**	94	**130**	**138**	145
Híbridos	*Eucalyptus grandis x E. dunnii*				*E. grandis x E.urophylla* clone I		*Eucalyptus grandis x E.urophylla* clone II							

Os tratamentos em negrito correspondem aos eventos geneticamente modificados.

4.3 Instalação da experimentação de campo

O experimento foi instalado em 05 de dezembro de 2012, em um delineamento experimental em blocos casualizados, no espaçamento de plantio de 3 x 2 m; entre cada bloco foi plantada uma 1 linha de árvores de eucalipto híbrido para facilitar a delimitação dos blocos (Figura 8). No plantio foram aplicados 1.500 g de calcário e cada planta foi adubada com 300 g de NPK (00-18-00) + 0,5% de Boro e 250 g de NPK (05-30-10) e foram realizadas 5 adubações de cobertura, a primeira após 90 dias com 120 g de NPK (14-00-15) + 0,5% de Boro, as demais foram feitas a cada 6 meses, até o 24º mês, da seguinte forma: 2ª adubação – 200 g NPK (19-00-19) + 0,3% de Zinco e 0,7% de Boro; 3ª adubação – 200 g NPK (25-00-00) + 0,5% de Boro e 100 g de KCL + 0,2% de Boro e a 4ª adubação – 300g NPK (19-00-19) + 0,3% de Zinco e 0,7% de Boro. A área experimental possui uma bordadura dupla de árvores de clones comerciais de eucalipto. Na avaliação foram selecionadas 70 árvores de eucalipto, sendo 5 árvores/tratamento ou evento.

Figura 8 - Aspecto geral da plantação experimental das árvores de eucalipto, com (A) 24 meses e (B) 36 meses

4.4 Coleta e preparo das amostras do lenho das árvores de eucalipto

Na altura do Diâmetro a Altura do Peito (DAP) do tronco das 70 árvores de eucalipto (5 árvores/tratamento ou evento) foram extraídas amostras do lenho (casca-casca), em novembro de 2013 – através de método não destrutivo-, utilizando sonda metálica (14 e 0,45cm, comprimento, diâmetro) acoplada a uma furadeira acionada à bateria. As amostras do lenho foram transferidas para tubos de plástico e, no Laboratório de Anatomia e Identificação de Madeiras - LAIM do Departamento de Ciências Florestais da ESALQ/USP, foram retiradas e mantidas em suportes de madeira para a secagem natural, evitando tortuosidade e rachadura. Em seguida, as amostras diametrais do lenho das árvores foram coladas no interior da reentrância de 2 suportes de madeira e segmentadas em duas seções transversais, em equipamento de serra circular, para a análise da estrutura anatômica, da densidade e da caracterização química do lenho.

4.5 Caracterização da estrutura anatômica do lenho das árvores de eucalipto

Maceração do lenho e mensuração das fibras: das sub-amostras do lenho foram cortados segmentos longitudinais do lenho com lâmina de aço e dissociados pelo método de Franklin (JOHANSEN, 1940). Os segmentos do lenho foram colocados em tubo de ensaio (com ácido acético e peróxido de hidrogênio, 120 vol., 1:1), fechados e mantidos em estufa (60°C, 48h) - propiciando a dissociação das células, sendo lavadas em água, coradas com safranina e transferidas para lâminas de vidro com glicerina. As fibras do lenho foram analisadas sob microscópio de luz com câmera digital acoplada para a mensuração das ***dimensões das fibras*** (***comprimento***, 10x: ***largura, espessura da parede e diâmetro do lume***, 40x) (IAWA, 1989) com o software imagem *Image Pro Plus*.

Índices de qualidade das fibras: complementarmente à determinação das dimensões das fibras do lenho das árvores de eucalipto foram calculados os Índices de Runkel (IR), Índice de enfeltramento (IE), Coeficiente de flexibilidade (CFL) e Fração parede (FP) pelas Equações 1 a 4. O Índice de Enfeltramento e o Coeficiente de Flexibilidade avaliam a flexibilidade das fibras, importante para a produção do papel, e que se correlacionam negativamente com a espessura da parede das

fibras. A fração parede relaciona-se a rigidez da fibra sendo que quanto maior seu valor, mais rígida é a fibra, influenciando as propriedades mecânicas do papel (CASTELO, 2007; FOELKEL, 1976). As fibras de folhosas com alto fator de Runkel, baixa proporção de parede e baixo coeficiente de flexibilidade são pouco flexíveis na formação do papel e, assim, prejudicam as propriedades relacionadas com a união das fibras (resistência à tração e arrebentamento) e melhoram a resistência ao rasgo (MANTERO et al., 2008; MOGOLLÓN; AGUILERA, 2002). O Índice de Runkel indica a flexibilidade das fibras, sua capacidade das fibras de interligação e as características de resistência e arrebentamento do papel (BALDI, 2001).

$$IR = \frac{2xe}{d} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots. \qquad (1)$$

$$IE = \frac{C}{D} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \qquad (2)$$

$$CFL = \frac{d}{D}\ x\ 100 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \qquad (3)$$

$$FP = \frac{2xe}{D}\ x\ 100 \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots. \qquad (4)$$

Onde: *e*: espessura parede; *d*: diâmetro lume; *C*: comprimento; *D*: largura da fibra.

Lâminas histológicas do lenho e avaliação dos vasos: na região periférica da seção transversal das amostras do lenho das árvores de eucalipto foram demarcadas e cortadas sub-amostras de lenho (1 cm, comprimento; 6 mm da casca). Estas amostras do lenho foram imersas em becker com água em ebulição para o processo de amolecimento, coladas em suporte de madeira e fixadas no suporte do micrótomo de deslizamento para o corte de seções transversais finas do lenho (15-20 µm, espessura) com navalha de aço (JOHANSEN, 1940; SASS, 1951). As seções finas do lenho foram clarificadas (água e hipoclorito de sódio; 1:1), lavadas (água destilada, ácido acético 1%), desidratadas (série alcoólica; 30-100%), lavadas (xilol), coradas (safranina) e montadas em lâminas semi-permanentes com glicerina. Da seção transversal do lenho foram coletadas as imagens digitais com microscópio de luz com câmera digital acoplada para a caracterização do ***diâmetro tangencial e frequência*** com o software *Image Pro Plus*.

4.6 Densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto por raios X

Densidade aparente do lenho pela densitometria de raios X: as amostras do lenho do tronco das 70 árvores de eucalipto foram acondicionadas em câmara de climatização (20°C, 60% UR, 24 h) até atingir a umidade de 12% (AMARAL; TOMAZELLO FILHO, 1998). Em seguida, as amostras do lenho foram encaixadas em suporte metálico e transferidas para a câmara de irradiação do equipamento QTRS-01X (Figura 10) para o seu escaneamento diametral (casca-casca) em feixe colimado de raios X (intervalo de 80 um). Os valores pontuais de densidade do lenho foram obtidos com o software QMS, baseando-se na relação da atenuação dos feixes de raios X e a densidade do lenho (Equação 5). Ao longo da amostra do lenho, são medidas pontualmente as intensidades *I e Io*, calculado o coeficiente µl e relacionado com a densidade do lenho (Equação 6). O coeficiente de atenuação de massa (µm) varia com a composição química do lenho (celulose, hemicelulose, lignina, extrativos, água) e a energia da radiação incidente. O parâmetro µm é conhecido e a densidade do lenho (ρ) pode ser calculada ao longo perfil radial da amostra do lenho, com a determinação do µl (QMS, 1999; CHAGAS, 2013). Devido à importância do teor de umidade no lenho é importante e, desta forma, as amostras do lenho devem ser acondicionadas em câmara de climatização. Obtidos os perfis diametrais de densidade aparente do lenho determinou-se a sua densidade aparente média, máxima e mínima e o índice de heterogeneidade do lenho.

$$\frac{I}{Io} = e^{-\mu_l t} \quad \text{.....(5)}$$

Onde:

I = Intensidade do feixe de radiação após atravessar a amostra de lenho;

Io = Intensidade do feixe de radiação incidente na amostra de lenho;

e = Base logarítmica natural;

µl = Coeficiente de atenuação linear da amostra de lenho (cm^{-1});

t = Espessura da amostra de lenho (cm).

$$\mu_l = \mu_m x\, \rho \quad \text{.....(6)}$$

Onde:

µm = Coeficiente de atenuação de massa da amostra de lenho (cm^2/g);

ρ =densidade da amostra de lenho (g/cm^3).

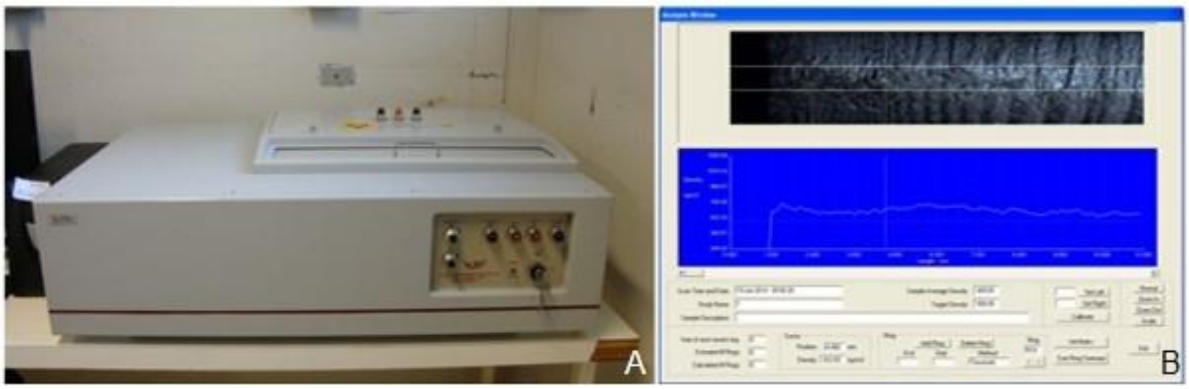


Figura 9 - Equipamento de densitometria de raios X, QTRS-01X (A); interface do programa utilizado na leitura da densidade aparente da amostra do lenho (B)

Aquisição de imagem digital por raios X: das mesmas amostras do lenho foram obtidas imagens digitais em equipamento de raios X, Faxitron LX-60 (capacidade de foco< 0,2mm). As amostras do lenho foram dispostas na câmara de irradiação (83 cm de distância fonte de raios X, 19 seg. exposição; 30 kV) obtendo-se o contraste face à densidade dos tecidos do lenho e pela relação baixa intensidade (kV) - distância da amostra do lenho-fonte de raios X (FAXITRON, 2009). As imagens digitais da seção transversal do lenho das árvores de eucalipto foram salvas nos formatos DICOM e JPEG (Figura 11) evidenciando as regiões do lenho mais claras (> densidade) e mais escuras (< densidade) pela escala da tonalidade de cinza e propiciando a sua análise qualitativa e, da mesma forma, comparando com a estrutura anatômica do lenho e com o perfil diametral de densidade do lenho.

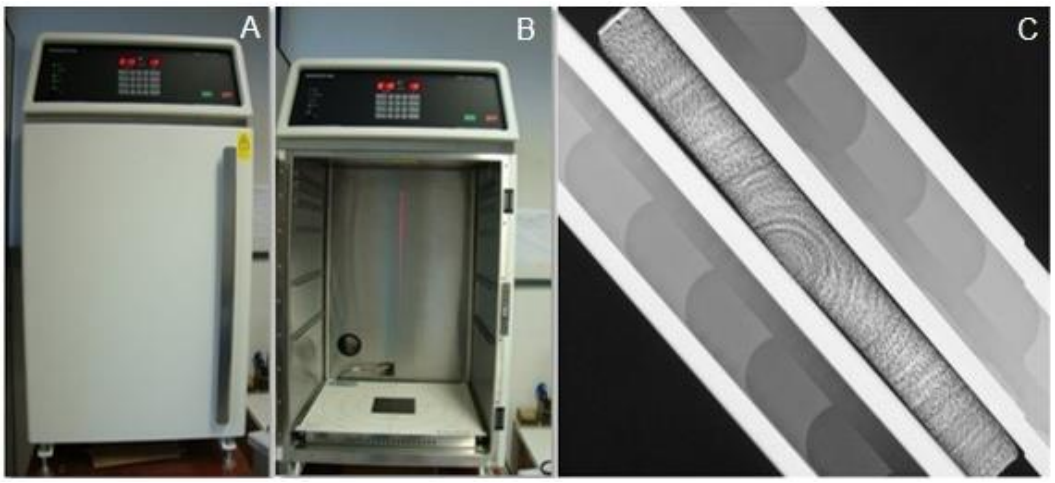


Figura 10 - Equipamento de raios X Faxitron e câmara de irradiação (A,B); imagem digital de alto contraste de amostra diametral do lenho de árvore de eucalipto (C)

4.7 Uso da espectroscopia NIR na avaliação das propriedades da madeira

A densidade aparente do lenho foi calibrada pela espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) baseando-se na espectroscopia vibracional que mede a interação luz-material, ou interação da radiação com as ligações químicas do lenho (HEIN, 2009). O espectro foi obtido pelo registro da intensidade absorvida em função do comprimento de onda da luz incidente e sua aquisição foi realizada pela reflexão difusa no espectrômetro Bruker Vector 22/NI e programa OPUS 7.1. A obtenção dos espectros foi realizada na faixa de 12500-3500 cm^{-1} (800-2850 nm) e resolução espectral de 8 cm^{-1} (um espectro é composto por 2.307 valores de absorbância).

Na determinação da **densidade aparente do lenho**, foram adquiridos 4 espectros/amostra da seção transversal do lenho das 70 árvores de eucalipto (total de 280 espectros). Para os **parâmetros anatômicos do lenho** (espessura da parede, fração parede, coeficiente de flexibilidade, índice de Runkel e índice de enfeltramento) foram obtidos 2 espectros/amostra do lenho. Na **caracterização química** as amostras do lenho foram moídas em forma de pó em equipamento moinho Willey (Retsch, modelo SM100) e obtidos 2 espectros/amostra do lenho.

4.8 Caracterização química do lenho das árvores de eucalipto

As amostras diametrais do lenho das árvores de eucalipto, cortadas no sentido transversal na dupla serra, foram moídas no Moinho Willey (Retsch, modelo SM100) e transferidas para frascos de vidro fechados e identificados (Figuras 11).

A caracterização química das amostras do lenho foi realizada no Laboratório da FuturaGene. Primeiramente, foi realizado o isolamento da parede celular pelo método adaptado de Foster (2010), a partir desse material foi quantificado o teor de celulose pelo método de Updegraff (1969), onde o reagente (ácido acétio, ácido nítrico e água, proporção 8:2:1) foi adicionado ao material isolado e a amostra foi aquecida à 100°C por 30 min., o material foi centrífugado e a parte sobrenadante foi descartada. Com a celulose hidrolisada em glicose, foi adicionado 175µl de ácido sulfúrico (72%) e incubou-se à temperatura ambiente (30 min.), em seguida por mais 15 min. após adição de 825 µl de água. A glicose liberada a partir da hidrólise da celulose foi o quantificada pelo método de antrona.

O teor de lignina foi determinado pelo método de brometo de acetilo à 25% em ácido acético glacial, adicionado no material isolado e a amostra foi incubada (2 horas à 50°C). Foi adicionado hidróxido de sódio (2M) e hidrocloreto de hidroxilamina (0,5 M) para neutralizar a solução e ácido acético para diluir. A lignina solubilizada foi mensurada com um espectrofotómetro à 280 nm, a % de lignina foi calculada utilizando a Fórmula 7. O coeficiente (coef.) utilizado foi de 15,69.

$$\%\ lignina = \frac{abs}{coef.x0{,}539cm} x \frac{(2mlx100\%)}{peso(mg)} \quad (7)$$

Figura 11 - Preparo das amostras do lenho das árvores de eucalipto. (A) amostra do lenho na encaixada na reentrância do suporte de madeira; (B,C) seccionamento transversal da amostra do lenho em equipamento de serra circular e as duas seções do lenho cortadas; (D,F) amostra do lenho para a análise da estrutura anatômica fixada em suporte de madeira; (E,G) moagem da amostra do lenho em moinho e armazenamento em frasco de vidro

4.9 Análises estatísticas

As análises estatísticas dos dados foram realizadas nos programas *R studio* e *SAS* (SAS INSTITUTE, 1997), em um delineamento aleatorizado, sendo aplicada a análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey a 5% de significância para a comparação das médias dos tratamentos. Ainda, foram aplicadas, as análises de regressão para os dados de densidade aparente do lenho das árvores. Além das análises de todos os tratamentos em um conjunto único, estes foram reunidos em 4 grupos pelo critério da sua proximidade genética, constituídos de: Grupo 1 – Eventos modificados 15, 16, 24 e o clone convencional 17; Grupo 2 – Evento modificado 30 e clone convencional 47; Grupo 3 – Eventos modificados 52, 64, 92, 93 e clone convencional 94; Grupo 4 – Eventos modificados 130 e 138 e clone convencional 145.

4.10 Análise Multivariada dos dados NIR

A relação espectro–propriedade do lenho foi obtida pela análise de regressão com o programa *The Unscrambler*® versão 9.8 (CAMO, AS, Norway). Primeiramente, foi realizada ACP (análise dos componentes principais) para o reconhecimento de padrões nas amostras, de maneira que foram gerados autovetores ortogonais, ou seja, não correlacionados, esses autovetores correspondem a maior variância possível dos dados com menor número de combinações lineares.

No processo laboratorial foram realizadas as etapas de (1) calibração pelo método PLS (regressão de mínimos quadrados parciais), no qual, estabelece a relação do sinal obtido e a propriedade do lenho e de (2) validação cruzada, realizada para testar a confiabilidade da etapa de calibração; nessa etapa, um conjunto de amostras da calibração é removido e com o restante é feito um novo modelo de predição, com esse processo repetido até que todas as amostras da calibração passem para o conjunto de predição, comparando os resultados previstos pelo modelo com os esperados. A validação cruzada foi utilizada nesse caso pelo número restrito das amostras.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização anatômica do lenho das árvores de eucalipto

5.1.1 Avaliação das dimensões e qualidade das fibras

A análise estatística dos parâmetros de dimensões das fibras do lenho das árvores de eucaliptos dos eventos GM e dos clones comerciais (Tabela 3) não indica diferenças significativas.

Tabela 3 - Comprimento, largura, espessura da parede e diâmetro do lume médio das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês

Tratamentos	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Espessura da parede (µm)	Diâmetro do lume (µm)
Eventos modificados	778,53 a	17,17 a	3,56 a	10,05 a
Clones comerciais	753,19 a	17,46 a	3,67 a	10,09 a

Média seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%

O **comprimento das fibras** do lenho das árvores de eucalipto dos eventos GM modificados, embora sem diferença estatística, foi ligeiramente maior, de 778,53 µm, comparado com o dos clones comerciais, de 753,19 µm. No entanto, a **largura, espessura da parede e diâmetro do lume** das fibras foram maiores no lenho das árvores dos clones comerciais em relação ao dos eventos GM modificados. A similaridade das dimensões das fibras indica que as árvores dos eventos GM são estáveis e comparativas às dos clones comerciais, ainda em estágio de formação do lenho denominado de juvenil.

Os resultados da análise estatística das dimensões das fibras do lenho das árvores de eucalipto dos 4 grupos de comparação e de seus componentes são apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 - Comprimento, largura, espessura da parede e diâmetro do lume médio das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, por grupo de comparação

Grupos (No)	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Espessura da parede (µm)	Diâmetro do lume (µm)
1	865,10 a	15,53 c	2,50 c	10,52 b
2	743,70 b	20,22 a	3,66 b	12,89 a
3	742,79 b	17,45 b	3,98 ab	9,45 bc
4	712,11 b	17,25 b	4,33 a	8,57 c

Médias seguidas mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%

Assim, o **comprimento das fibras** do lenho das árvores, grupo 1, que compreende os eventos GM de números 15,16 e 24 e o clone convencional 17 foi o mais elevado, com valor de 865,10 µm e diferente significativamente dos demais grupos. Para, a **largura das fibras** do lenho das árvores do grupo 1 foi a menor**,** de 15,53 µm; as fibras de maior largura foram mensuradas no lenho das árvores do grupo 2 que inclui o evento GM 30 e o clone convencional 47, com 20,22 µm, havendo diferença significativa. Ainda, para a largura das fibras, no lenho das árvores dos grupos 3 e 4 não houve diferença significativa.

A **espessura da parede** das fibras do lenho das árvores do grupo 4, que inclui os eventos GM No 130 e 138 e o clone convencional 145 foi a mais elevada, com 4,33 µm com diferença significativa em relação aos grupos 1 e 2, com 2,50 e 3,66 µm, respectivamente.

A avaliação dos tratamentos dentro dos grupos de comparação indica que para o parâmetro **comprimento das fibras** não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos. A **largura das fibras** de lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos 30 e 47 do grupo 2 apresentou diferença significativa, sendo a maior largura, de 22,02 µm, mensurada no evento 30. A largura média das fibras foi similar no lenho do tronco das árvores dos demais tratamentos, variando de 14,66 a 18,42 µm, nos eventos 16 e clone 47, respectivamente.

Apenas para os tratamentos do grupo 2, o valor do **diâmetro do lume das fibras** obteve diferença estatística significativa; o evento 30 e o clone convencional 47 mostraram os valores mais altos, 14,45 e 11,33 µm, respectivamente. O menor valor para o diâmetro do lume das fibras foi obtido no lenho do tronco das árvores dos tratamentos 145, 138 e 130 do grupo 4, sendo de 8,41; 8,61 e 8,70 µm, respectivamente.

Os valores da **espessura da parede** apenas foram significativos estatisticamente para os tratamentos 15 e 24 do grupo 1 ainda, nesse grupo foram encontrados os menores valores de espessura de parede.

Tabela 5 - Comprimento, largura, espessura da parede e diâmetro do lume das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, em relação aos componentes dos grupos de comparação

Grupos	Trat.	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Espessura da parede (µm)	Diâmetro do lume (µm)
1	**15**	858,92 a	15,02 a	2,04 b	10,94 a
	16	860,99 a	14,66 a	2,52 ab	9,62 a
	17	837,63 a	16,36 a	2,61 ab	11,14 a
	24	902,86 a	16,09 a	2,84 a	10,41 a
2	**30**	774,44 a	22,02 a	3,78 a	14,45 a
	47	712,97 a	18,42 b	3,54 a	11,33 b
3	**52**	718,66 a	18,29 a	3,98 a	10,24 a
	64	745,30 a	16,95 a	3,99 a	9,08 a
	92	797,38 a	17,64 a	4,08 a	9,48 a
	93	715,82 a	16,87 a	3,90 a	8,98 a
	94	736,80 a	17,47 a	3,96 a	9,47 a
4	**130**	692,78 a	17,11 a	4,21 a	8,70 a
	138	718,19 a	17,06 a	4,23 a	8,61 a
	145	725,38 a	17,58 a	4,55 a	8,41 a

Média seguidas mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%. Números em negrito correspondem aos eventos geneticamente modificados.

Assim, observa-se que, de modo geral, as árvores de eucalipto dos tratamentos com fibras de maior comprimento no lenho dos seus troncos, apresentaram menor largura, espessura da parede e maior diâmetro do lume das fibras.

Segundo Tomazello Filho (1987) o aumento no comprimento das fibras no lenho em função da idade das árvores de eucalipto é resultado do aumento do comprimento das células fusiformes iniciais do meristema cambial, sendo que a estabilização das dimensões das fibras ocorrerá na madeira adulta. Desta forma, as dimensões das fibras mensuradas no lenho juvenil das árvores dos diferentes tratamentos sofrerão significativas alterações quando do processo de envelhecimento das árvores e da formação da madeira adulta.

Sette Jr. (2010) estudando árvores de *Eucalyptus grandis* com 48 meses de idade encontrou valor médio de comprimento das fibras de 870,94 µm, próximos aos

valores encontrados para o grupo 1. Enquanto, Castro (2014), trabalhando com a mesma espécie aos 12 meses, determinou o comprimento médio em 745,86 µm, encontrou valores inferiores para a largura da parede e espessura da parede, 14,64 e 1,92 µm, respectivamente e valor próximo para o diâmetro do lume, 10,12 µm.

Em árvores da espécie *E. dunnii,* com 7 anos, Florsheim et al. (2009), notou valores superiores de comprimento e espessura da parede (917,32 e 4,15 µm) e próximos para a largura da parede e diâmetro do lume (17,15 e 9,16 µm). Trugilho et. al. (2005), estudou o híbrido *E. grandis x E. urophylla* aos 5 anos, determinou valores próximos para os parâmetros largura das fibras, diâmetro do lume e espessura da parede, de 15,76, 11,18 e 2,30 µm, respectivamente e comprimento das fibras superior sendo, 926,00 µm.

Ainda, a avaliação das dimensões das fibras no lenho do tronco das árvores de eucaliptos é fundamental para a aplicação dos programas de melhoramento e de transformação genética visando a seleção de árvores com características do lenho desejadas no processo industrial de transformação da madeira. Segundo Castro (2014) a avaliação dos parâmetros de dimensões e qualitativos das fibras do lenho das árvores de eucalipto é importante e deve ser aplicada nos estágios de maturação do lenho e do crescimento das árvores.

5.1.2 Índice de qualidade das fibras

Os parâmetros indicados do índice de qualidade das fibras do lenho das árvores de eucalipto (Tabela 10) relacionam, principalmente, à qualidade da madeira para a produção de celulose e papel.

Tabela 6 - Fração parede, coeficiente de flexibilidade, índice de enfeltramento e de Runkel médio das fibras do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, em relação

Tratamentos (No)	Fração parede (%)	Coeficiente de flexibilidade (%)	Índice de enfeltramento	Índice de Runkel
15	30,18	69,82	57,43	0,44
16	33,29	66,73	59,15	0,51
17	31,81	68,20	51,07	0,47
24	35,52	64,00	56,65	0,56
30	34,38	65,64	35,33	0,53
47	38,49	61,50	38,71	0,64
52	44,67	55,33	39,55	0,90
64	49,96	53,02	43,93	0,90
92	46,86	53,13	45,32	0,96
93	46,13	53,86	42,35	0,86
94	47,91	52,10	41,90	0,95
130	49,17	50,81	42,05	0,98
138	49,70	50,32	41,54	1,01
145	51,63	48,36	40,89	1,11
CV (%)	16,19	11,59	8,52	32,76

Os números em negrito correspondem aos eventos geneticamente modificados.

Em relação à **fração parede das fibras** do lenho das árvores de eucalipto e, de acordo com as inferências de Foelkel (1978), verificam-se valores abaixo de 60%; o menor valor de fração parede foi mensurado nos tratamentos 15, 16, 17, 24, 30 e 47 - com 30,18 a 38,49% -, indicativo que as fibras têm menor rigidez e com maior capacidade de interligação. O maior valor obtido para o lenho das árvores do tratamento 145 - de 51,63% - encontra-se na faixa considerada como aceitável. Inúmeros autores, como Foelkel e Barrichelo (1975), indicam que a fração parede das fibras delineia a proporcionalidade positiva com a resistência ao rasgo e negativa em relação à resistência à tração e ao arrebentamento.

O **coeficiente de flexibilidade das fibras** do lenho das árvores de eucalipto indica, segundo Barrichelo e Brito (1976), a habilidade de ligação das fibras e mantém relação positiva com a resistência à tração e ao arrebentamento. O valor do coeficiente de flexibilidade das fibras variou de 48,36 a 69,82 %, com o maior valor no lenho das árvores dos grupos 1 e 2 e menor valor nos grupos 3 e 4. Pode-se

inferir que o valor mais elevado do coeficiente de flexibilidade das fibras representa melhor ligação entre as fibras, maior resistência ao estouro, menor opacidade e resistência ao rasgo, segundo Foelkel (1978).

O **Índice de enfeltramento das fibras** do lenho das árvores de eucalipto está associado à resistência do papel e, indica-se que, quanto maior o seu valor mais fibrosa torna-se a madeira, segundo Barrichelo e Brito (1976); Foelkel (1978) e outros pesquisadores. Para este parâmetro verificou-se para o lenho das árvores dos tratamentos 30, 47 e 52 o menor valor e nas árvores do grupo 1 (15, 16, 17 e 24) o maior valor.

O **índice de Runkel das fibras** do lenho das árvores de eucalipto está associado à rigidez e a capacidade de interligação das fibras. Para todos os tratamentos o seu valor esteve abaixo de 1,5 sendo o valor mais elevado (de 1,11) nas fibras do clone convencional No 145 e no grupo 4, em geral. No lenho das árvores do grupo 3 o índice de Runkel foi de 0,86 a 0,96, podendo considerar que as árvores dos grupos 1 e 2 possuem fibras com maior capacidade de interligação e menos rígidas.

Estes índices de fibras foram avaliados por Florsheim (2009) no lenho de árvores de *E. dunnii* com 7 anos, obtendo valores de IR, IE e CF de 0,91, 47,56 e de 52,49% - similares aos do presente trabalho - e superior para a FP de 52,56%. Nas árvores de *E. grandis, E. urophylla* e *E. uroplylla* x *grandis*, de 6 anos, Brisola (2011) obteve valor superior para a FP (51,57; 60,00 e 61,00 %, respectivamente), IE (60,52; 62,22 e 55,00) e IR (1,06; 1,5 e 1,56); apenas para o CF o valor foi inferior e de 48,43; 40,00 e 39,00%. Essas diferenças são devidas às diferenças na idade das árvores de eucalipto e estágio de maturação do lenho e das fibras no tronco das árvores.

5.1.3 Avaliação da frequência e diâmetro tangencial do lenho das árvores de eucalipto

A **frequência** e **diâmetro tangencial dos vasos** do DAP do lenho do tronco das árvores de eucalipto dos eventos GM e dos clones comerciais são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Frequência e diâmetro tangencial médio dos vasos do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês, dos eventos e clones comerciais

Tratamentos	Frequência (vasos/mm²)	Diâmetro tangencial (µm)
Eventos modificados	29,45 a	82,62 a
Clones comerciais	28,26 a	77,85 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%

A **frequência dos vasos** no lenho das árvores de eucalipto do tratamento dos eventos GM foi ligeiramente foi de 29,45 vasos/mm^2, sendo pouco do maior que nos clones comerciais de 28,26 vasos/mm², sem diferença estatística. Enquanto, o **diâmetro tangencial** dos vasos no lenho das árvores dos eventos GM foi de 82,62 µm, significativamente mais alto do lenho dos clones comerciais, de 77,85 µm. A imagem da seção transversal do lenho do tronco das árvores (Figura 12) retrata a sua estrutura anatômica, característica do gênero *Eucalyptus* em relação à forma, disposição e frequência dos vasos, além das fibras, parênquima longitudinal e radial.

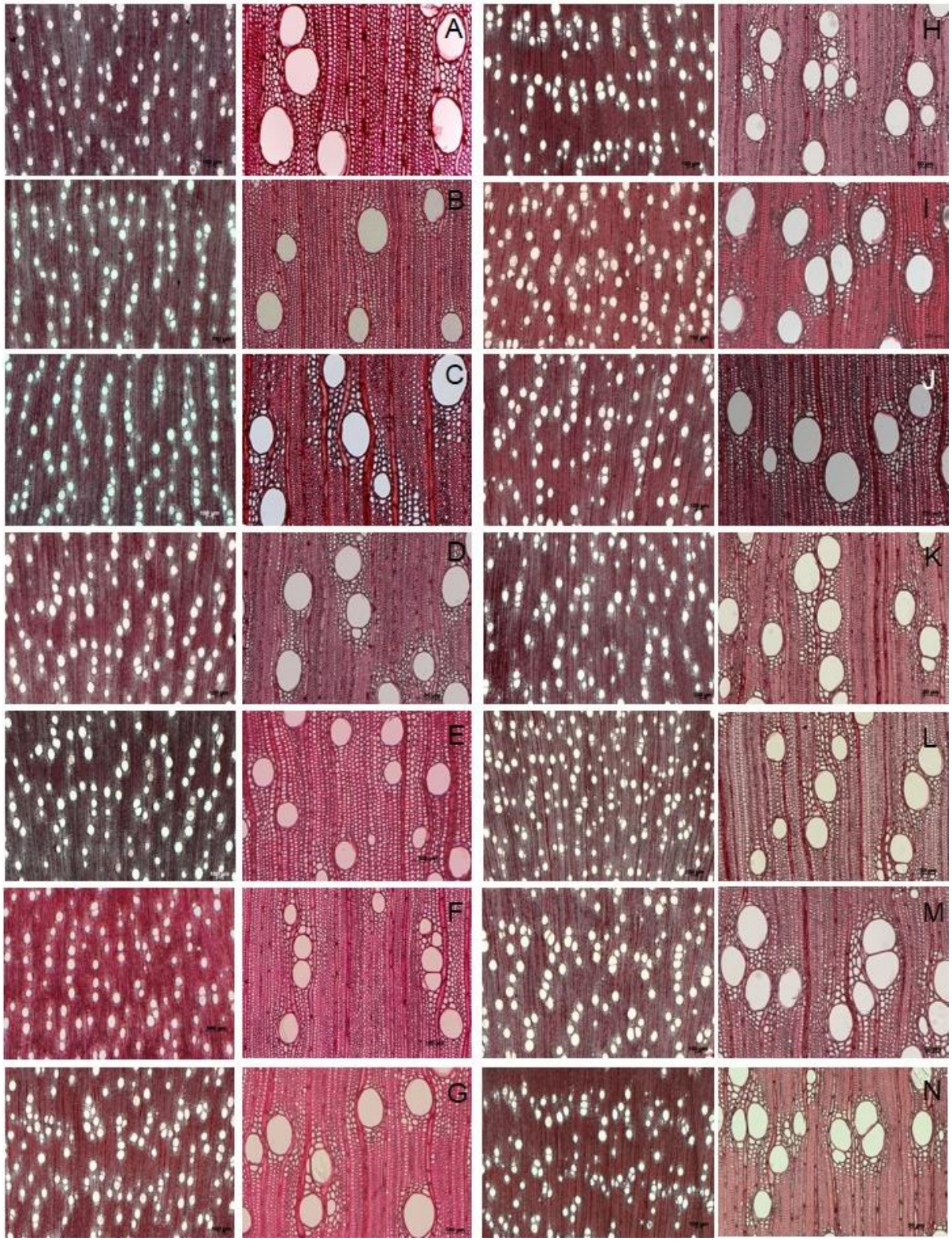


Figura 12 - Seção transversal do lenho das árvores de eucalipto, ao 12º mês. A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, referentes aos tratamentos 15; 16; 17; 24; 30; 47; 52; 64; 92; 93; 94; 130; 138; 145, respectivamente. (2,5 e 10x)

O resultado da análise dos vasos no lenho das árvores de eucalipto (Tabelas 8 e 9) indica que, em nível de grupos, a frequência média dos vasos foi maior nos grupos 4 e 3, com 32,50 e 31,85 n°/mm², respectivamente, e menor dos grupos 2 e 1, com 25,30 e 24,57 n°/mm² respectivamente, com diferença significativa. O diâmetro tangencial médio dos vasos foi maior para o grupo 1 e menor para o grupo 2, com 83,47 e 78,59 µm, respectivamente, sem diferença significativa.

Tabela 8 - Frequência e diâmetro tangencial médio dos vasos no lenho das árvores de eucalipto ao 12º mês, nos grupos de comparação

Grupos	Frequência (vasos/mm²)	Diâmetro tangencial (µm)
1	24,57 b	83,47 a
4	32,50 a	81,77 a
3	31,85 a	80,33 a
2	25,30 b	78,59 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%.

Na análise geral dos eventos e clones comerciais em relação à frequência dos vasos no lenho das árvores não houve diferença significativa entre médias, sendo que os grupos 4 e 1 apresentaram maior e menor média/tratamento, respectivamente.

Para o diâmetro tangencial dos vasos no lenho das árvores de eucalipto, na avaliação dos tratamentos por grupo, verificou-se diferença significativa apenas para o grupo 3 (compreende os eventos 52, 64, 92, 93) e o convencional 94, com o tratamento 52 atingindo o maior diâmetro tangencial médio dos vasos, de 89,39 µm.

Tabela 9 - Frequência e diâmetro tangencial dos vasos no lenho das árvores de eucalipto ao 12º mês, nos tratamentos de grupos de comparação

Grupo	Tratamento (No)	Frequência (n°/mm²)	Diâmetro tangencial (µm)
1	**15**	26,42 a	82,31 a
	16	23,00 a	79,99 a
	17	24,33 a	81,36 a
	24	24,60 a	89,29 a
2	**30**	25,20 a	79,40 a
	47	25,40 a	77,77 a
3	**52**	29,33 a	89,39 a
	64	33,58 a	78,29 b
	92	31,23 a	77,31 b
	93	32,47 a	82,67 b
	94	32,61 a	73,96 b
4	**130**	34,68 a	80,56 a
	138	32,12 a	86,42 a
	145	30,78 a	78,33 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%. Os números em negrito correspondem aos eventos geneticamente modificados.

No lenho do tronco de árvores de *E. grandis* no 12º mês, Castro (2014) obteve para a frequência dos vasos o valor inferior e médio de 17,19 e de 86,94 vasos/mm², respectivamente, semelhante ao dos eventos GM. Ainda, Oliveira et al. (2012) obteve no lenho de árvores de *E. grandis*, de 5 anos, valor superior do diâmetro tangencial e menor de frequência dos vasos, de 99,21 µm e de 14,14 n°/mm², respectivamente. Cruz (2000) mensurou para árvores de eucalipto de 5,5-10,5 anos, vasos de diâmetro tangencial e frequência média mais elevada, de 124 µm e de 14 vasos/mm², respectivamente. Em árvores de *E. grandis* x *E. urophylla*, Alzate (2004) obteve uma frequencia de vasos pouco inferior (13 vasos/mm²) e o diâmetro tangencial de 103,63 µm. No lenho de árvores de *E. grandis*, de 10, 14, 20 e 25 anos, Silva (2007) constatou que o diâmetro dos vasos aumenta com a idade das árvores e, ainda, Franco (2014) verificou o mesmo modelo de variação para o diâmetro tangencial, e a redução frequência dos vasos.

A importância dos vasos nos processos fisiológicos no lenho do tronco das árvores, como na condução de água e de nutrientes, é destacada por Castro (2014), indicando que a disponibilidade hídrica influência nas suas dimensões e frequência.

5.2 Avaliação da densidade aparente do lenho do lenho das árvores de eucalipto por densitometria de raios X

Os valores de densidade aparente média, mínima e máxima do lenho do DAP do tronco das árvores de eucalipto geneticamente modificadas e dos clones comerciais, pela densitometria de raios X (Tabela 10) não indicam diferença significativa quando os tratamentos são analisados em conjunto. A densidade aparente máxima e mínima do lenho das árvores de eucalipto foi similar (de 0,55 e de 0,35 g/cm³), e a média foi próxima (de 0,45 a 0,44 g/cm3).

Alzate (2004) estudando árvores de clones de *E. grandis* de 8 anos, obteve densidade aparente média do lenho de 0,46 g/cm³. Por outro lado, Sette Junior et al. (2009) e Sette Junior (2014) determinaram para árvores de *E. grandis* de 2 e 6 anos valores de densidade do lenho de 0,53 e de 0,50 g/cm³; com o mesmo método de densitometria de raios X, Tomazello Filho (2006) obteve para o lenho de árvores de eucalipto, de 10 anos, o valor de 0,65g/cm³. Ainda, Pereira (2000) para o lenho de árvores de *Eucalyptus grandis* de 48 meses, *E. dunnii* de 36 meses e *E. urophylla* de 126 meses indicou valores de 0,36; 0,44 e 0,56 $g.cm^{-3}$, respectivamente. Franco (2014) com árvores de *E. grandis* de 24 meses determinou a densidade aparente de 0,48 $g.cm^{-3}$; Castro (2014) para árvores de *E. grandis*, de 12, 24 e 36 meses indicou densidade do lenho de 0,49; 0,48 e 0,54 $g.cm^{-3}$, respectivamente. As diferenças dos valores de densidade do lenho devem-se, principalmente, à idade das árvores, teor de madeira juvenil-adulta, genética, características do sitio, etc. (HILLIS; BROWN, 1984).

Tabela 10 - Densidade aparente média, máxima e mínima, em g/cm³, do lenho das árvores de eucalipto, aos 12 meses de idade

Tratamento	Dens. aparente do lenho (g/cm³)		
	Média	Mínima	Máxima
Eventos modificados	0,447 a	0,351 a	0,546 a
Clones comerciais	0,441 a	0,354 a	0,546 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%

Considerando as árvores de eucalipto dos grupos dos eventos modificados e do clone convencional (Tabela 11) verifica-se na comparação dos grupos, separadamente, que não houve diferença significativa da densidade aparente máxima e média do lenho, exceto para a densidade mínima do lenho das árvores do grupo, com o valor 0,347 e 0,327 g/cm³.

A densidade média aparente do lenho das árvores dos clones comerciais 17, 47, 94 e 145 foi de 0,426; 0,411; 0,460; 0,465 g/cm^3, respectivamente; o valor mais elevado de densidade média do lenho das árvores transformadas do evento 138 foi de 0,460 g/cm^3. O objetivo da transformação é obter maior valor de densidade do lenho para as árvores de eucalipto dos eventos 24 e 30, com 0,427 e 0,406 g/cm^{3,} respectivamente. Cabe destacar novamente que as árvores de eucalipto na idade analisada formam somente o lenho com características juvenis, com incremento no valor da densidade nas árvores adultas. As árvores de eucalipto dos tratamentos 130, 138 e 145 formaram no seu tronco o lenho maior densidade aparente média de 0,45, 0,46 e de 0,46 g/cm³, respectivamente. As árvores do tratamento 145 (não modificados), com o menor valor de densidade do lenho nas árvores de eucalipto dos tratamentos 16, 30 e 47 (não modificado), com 0,41, 0,41 e 0,40 g/cm³, respectivamente.

A inexistência de variação significativa e o valor da densidade aparente média do lenho do tronco das árvores de eucalipto aos 12 meses, nos diversos tratamentos são, de acordo com a literatura especializada, devidos à idade e formação do lenho com características exclusivamente juvenis. Latorraca e Albuquerque (2000) e Ballarin e Palma (2003) descrevem que as propriedades físicas – como a densidade – diferem significativamente no lenho juvenil, em relação ao adulto, no tronco das árvores de eucalipto.

Tabela 11 - Densidade aparente média, mínima e máxima do lenho das árvores de eucalipto ao 12º mês em grupos de comparação

Grupos	Tratamento	Densidade aparente do lenho (g/cm³)		
		Média	Mínima	Máxima
1	**15**	0,419 a	0,333 ab	0,538 a
	16	0,414 a	0,327 b	0,516 a
	17	0,426 a	0,347 a	0,526 a
	24	0,427 a	0,346 a	0,519 a
2	**30**	0,406 a	0,335 a	0,496 a
	47	0,411 a	0,327 a	0,521 a
3	**52**	0,443 a	0,351 a	0,545 a
	64	0,455 a	0,371 a	0,586 a
	92	0,448 a	0,357 a	0,560 a
	93	0,446 a	0,351 a	0,568 a
	94	0,460 a	0,372 a	0,559 a
4	**130**	0,456 a	0,367 a	0,569 a
	138	0,460 a	0,374 a	0,563 a
	145	0,465 a	0,370 a	0,577 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05% de significância. Em negrito estão destacados os eventos geneticamente modificados.

A densidade aparente média do lenho do tronco das árvores de eucalipto, em nível de grupo, sem a separação dos GM e dos clones comerciais (Tabela 12) indica que, para os Grupos 4 (variou de 0,57 a 0,37; média de 0,46 g/cm³) e 3, a densidade média, mínima e máxima do lenho mostra diferença significativa em relação às árvores dos Grupos 1 e 2.

Tabela 12 - Densidade aparente média, mínima e máxima do lenho das árvores de eucalipto ao12º mês em grupos de comparação

Grupos	Densidade aparente do lenho (g/cm³)		
	Média	Mínima	Máxima
4	0,460 a	0,370 a	0,570 a
3	0,451 a	0,360 a	0,563 a
1	0,421 b	0,338 b	0,525 b
2	0,409 b	0,331 b	0,508 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 0,05%

Os perfis densitométricos radiais do lenho do tronco das árvores de eucalipto dos tratamentos permitem caracterizar 2 modelos de variação distintos, sendo (A) com menor densidade do lenho interno, no entorno da região da medula, com valor mais elevado na sua região mais externa; (B) densidade do lenho uniforme e praticamente linear ao longo do raio das amostras, encontrado em mais de 50% das amostras analisadas (Figura 13). Os diferentes perfis radiais da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos são apresentados com as respectivas seções transversais do lenho obtidas pelo equipamento de raios X digital, evidenciando a relação da densidade e estrutura anatômica do lenho.

Os perfis radiais da microdensidade do lenho das árvores mais representativos de cada tratamento (Figura 14), demonstrando que, geralmente, o menor valor da densidade do lenho está restrito à região central do lenho do tronco (com lenho juvenil, conforme discutido); o maior valor da densidade do lenho foi observada nas camadas mais externas do lenho do tronco das árvores de eucalipto.

Aplicando-se a análise de regressão múltipla pode-se compor um modelo de regressão (Equação 8) que explica 74% da variabilidade da densidade aparente média, em função das densidades mínima e máxima. Conforme detalha Sette Jr. (2010), os 26% remanescentes ocorrem devido à variabilidade natural do lenho por outros fatores bióticos e abióticos.

$$Dmed = 118,65+0,25dmin+0,43dmax \text{.....Equação (8)}$$

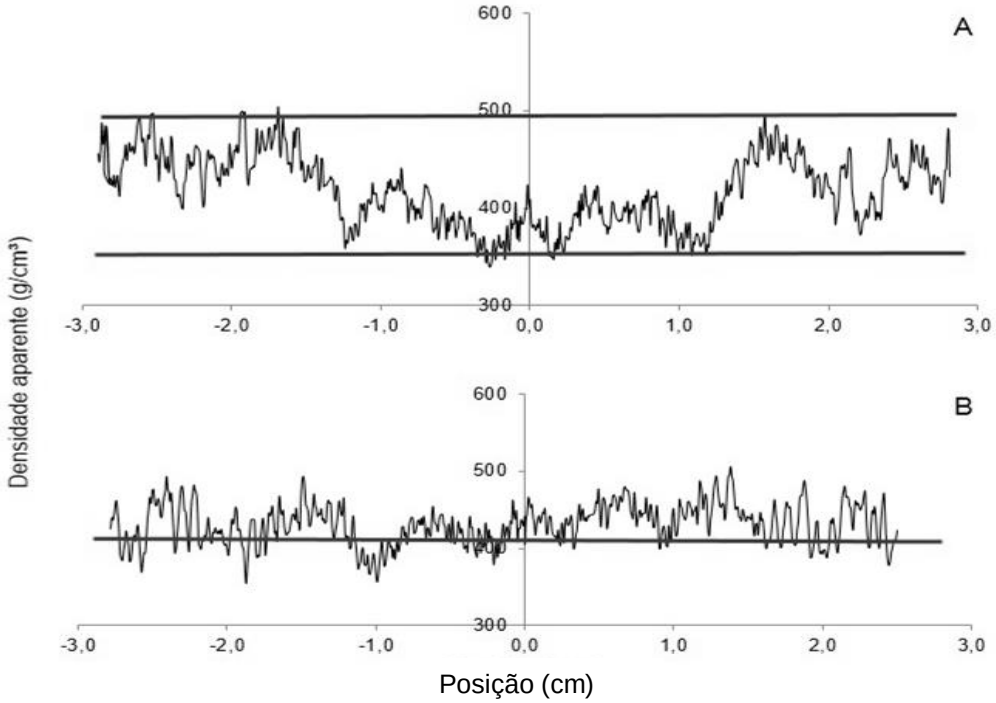
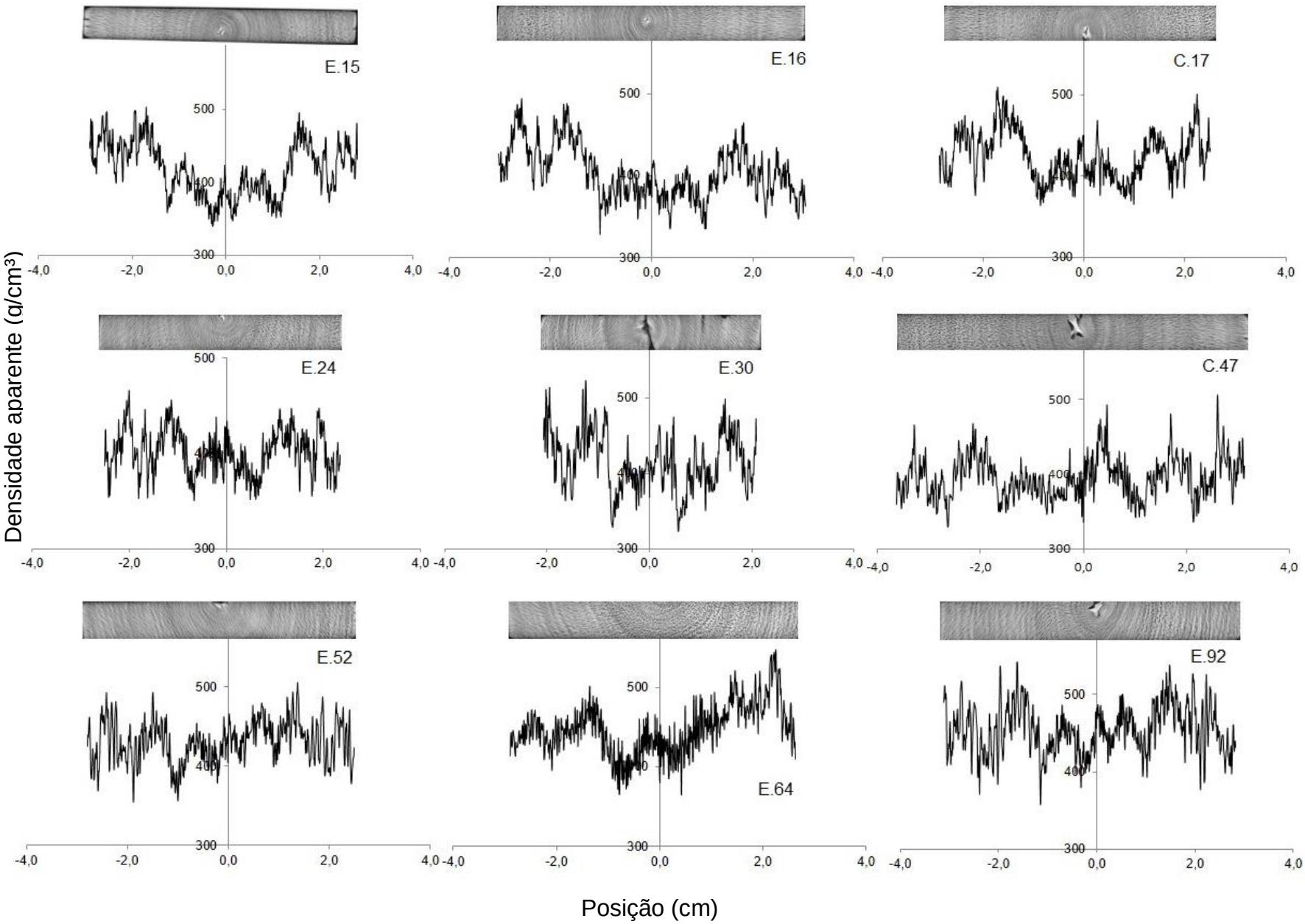


Figura 13 - Perfil radial da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto. (i) modelo de variação A; (ii) modelo de variação B da densidade


E.15
E.16
C.17
E.24
E.30
C.47
E.52
E.64
E.92
500
400
300
-4,0
-2,0
0,0
2,0
4,0
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)

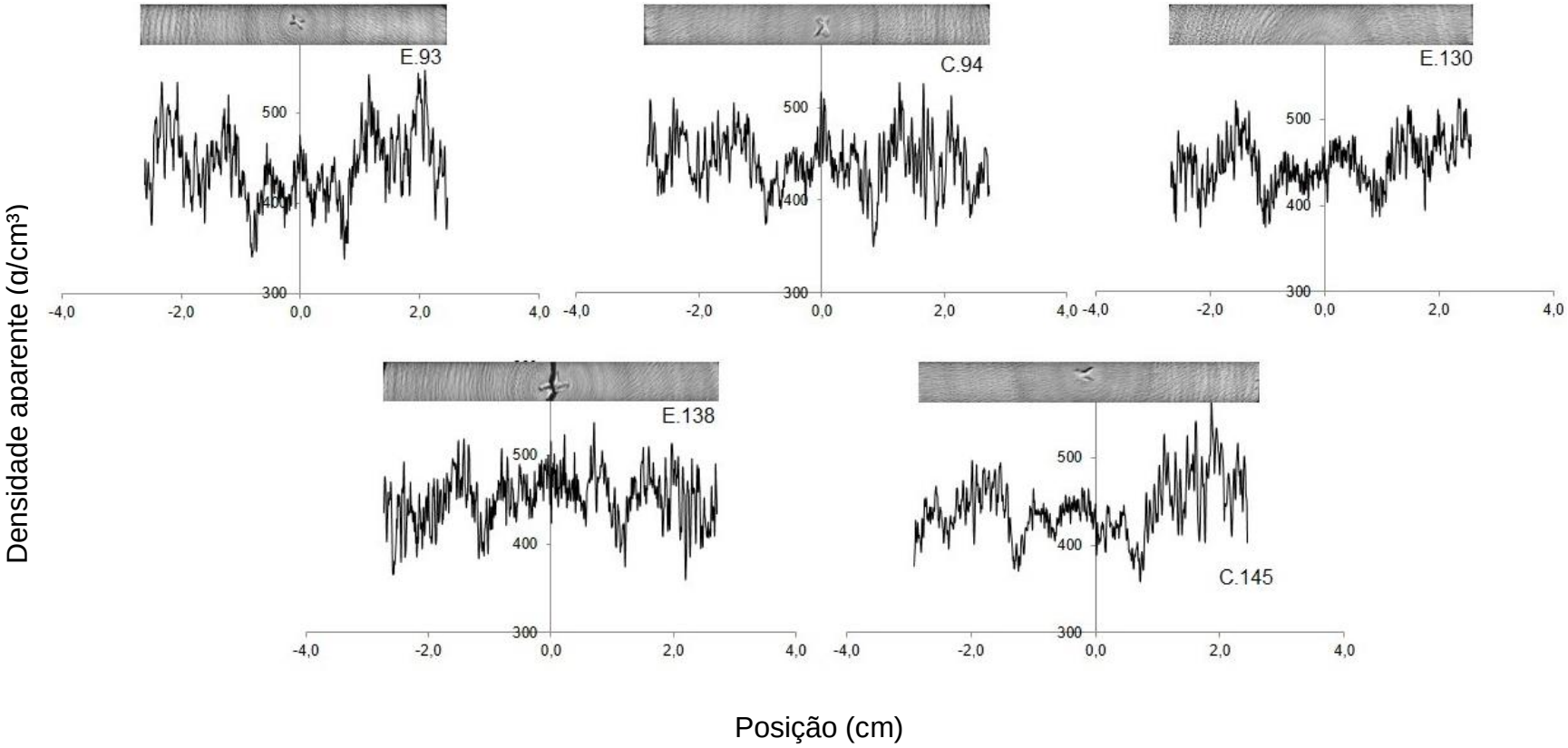


Figura 14 - Perfil radial da densidade aparente e imagem obtida do equipamento de raios-x digital do lenho no DAP das árvores de eucalipto, ao 12º mês, por tratamento.

5.3 Avaliação dos modelos NIR para as propriedades do lenho das árvores de eucalipto

5.3.1 Avaliação da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto

A predição da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto por espectroscopia NIR foi obtida pelo método de análises multivariadas da regressão dos mínimos quadrados parciais. A Figura 15A representa o espectro do lenho do tronco das árvores de eucalipto, com indicativo da sua redução para a seleção da área mais informativa. Para a geração dos modelos foram utilizados como referência os valores da densidade aparente média do lenho obtidos por densitometria de raios X (Tabela 13), do total de 70 amostras, foram utilizados 69 pois, na realização da densitometria a amostra 1 não foi incluída. Assim, foram adquiridos 2 espectros/amostra do lenho, utilizando a análise destas amostras do lenho para a obtenção dos valores de referência, com a média de 2 avaliações resultando em 70 espectros.

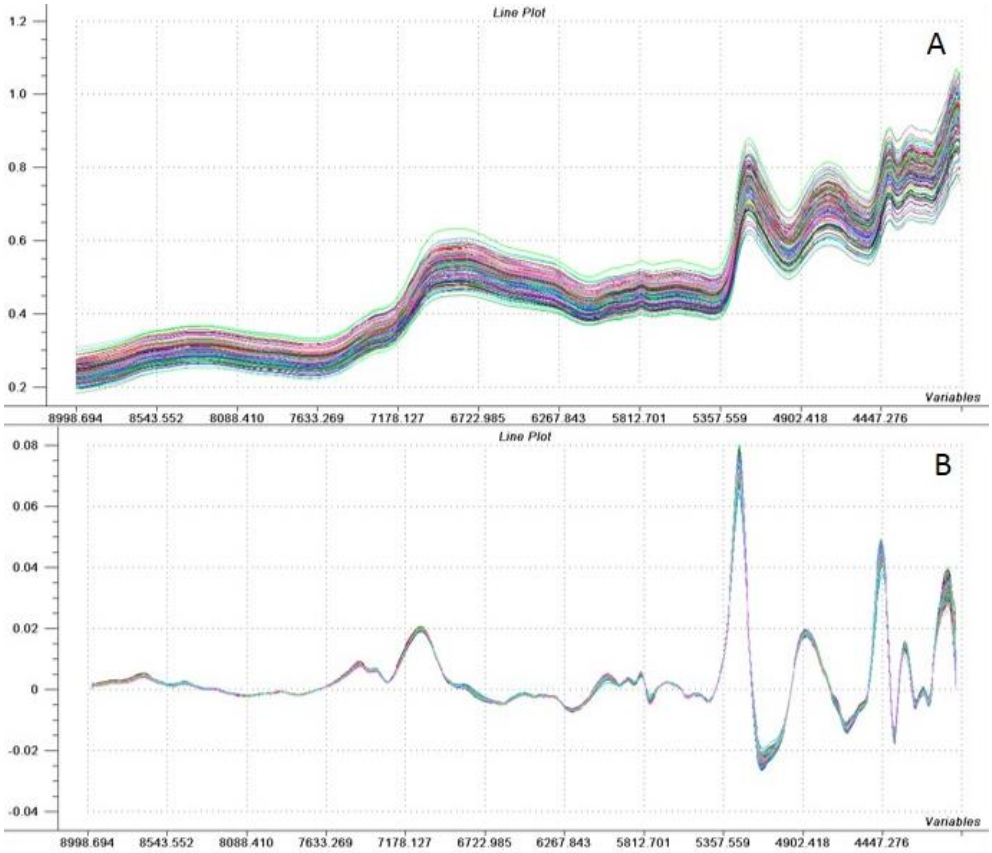


Figura 15 - Espectros do lenho das árvores de eucalipto, de todos os tratamentos, pela espectroscopia NIR visando a determinação da densidade aparente do lenho. (A) espectros brutos, (B) espectros com pré-tratamentos: SNV e 1ªderivada

Tabela 13 - Determinação da densidade aparente média do lenho das árvores de eucalipto: geral dos tratamentos e a estatística do conjunto das amostras do lenho

Propriedade	N	Valor mínimo (g/cm³)	Valor máximo (g/cm³)	Valor médio (g/cm³)	sd	CV (%)
Da $_{obs}$ (g/cm³)	69	0,38	0,49	0,44	0,024	5,40

Da $_{obs:}$ Densidade aparente média observada; N: número de amostras. sd: Desvio padrão e CV: Coeficiente de variação em %

Na seleção das amostras do lenho mais apropriadas para a análise dos resultados empregou-se a técnica de análise multivariada ACP. Assim, as variáveis,

por combinações lineares geram componentes principais em ordem decrescente de variância máxima. A ACP reduz os pontos representativos mantendo a estatística original; a ACP do valor da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto, representada pelo Componente Principal 1 (CP 1) e componente principal 2 (CP 2) é apresentada na Figura 16.

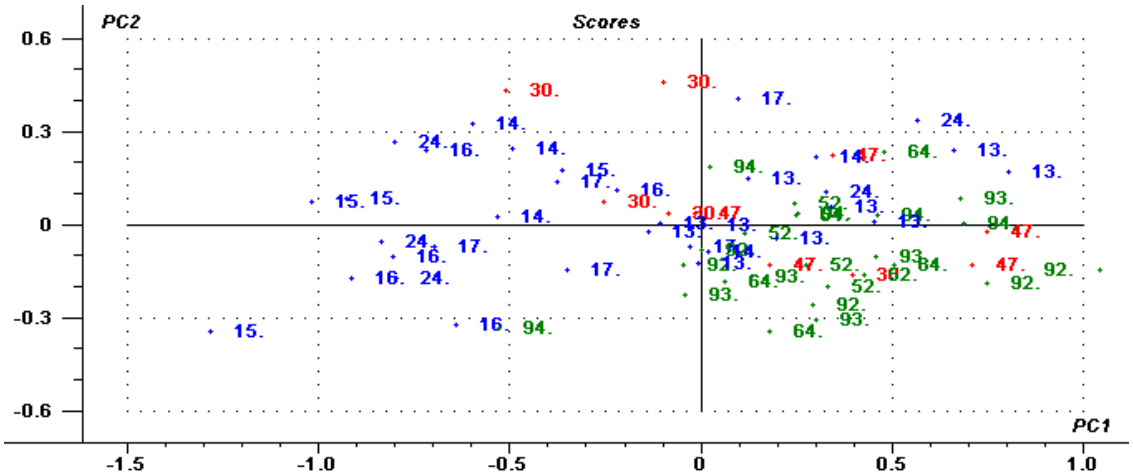


Figura 16 - Análise dos componentes principais (PC1 e PC2) dos espectros NIR do lenho em relação à densidade aparente. O número representa o evento ou clone convencional; as cores separam os grupos de comparação.

A padronização e a minimização dos ruídos presentes nos espectros foram conduzidas na fase de pré-processamento da faixa espectral selecionada, sendo que os melhores pré-tratamentos foram testados utilizando o *Standard Normal Variate* (SNV) e a primeira derivada de *Savitsky-Golay*. Foram identificados e retirados 5 outliers baseando-se no grau de afastamento da amostra do lenho das árvores em relação à média.

No desenvolvimento e seleção de um modelo de predição mais confiável da densidade do lenho, em relação ao conjunto das amostras do lenho, foram realizadas as calibrações e as validações cruzadas. Assim, as amostras do lenho das árvores de todos os tratamentos (total de 70 amostras do lenho) foram analisadas conjuntamente para elaborar um modelo de predição mais robusto. O valor da calibração e da validação cruzada utilizando os dados espectrais NIR e os valores de referência de todos os tratamentos são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Dados da calibração e da validação cruzada com os espectros NIR para a predição da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos

Propriedade	R^2_c	R^2_{cv}	Fat.	SEC	SECV	RPD_{cv}	Média	N	sd	CV
Da média (g/cm³)	0,87	0,78	12	0,007	0,098	2,40	0,44	64	0,024	4,76

Da média: densidade aparente média; R^2c: coeficiente de determinação da calibração; R^2cv: coeficiente de determinação da validação cruzada; Fatores do PLS: número de fatores da PLS; SEC: erro padrão da calibração; SECV: erro padrão da validação cruzada; RPD: relação de desempenho de desvio; Média: média dos valores observados sem os outliers; N: número de amostras; sd: Desvio padrão e CV: coeficiente de variação em %

Assim, densidade aparente média das 64 amostras do lenho das árvores de eucalipto foi de 0,44 g/cm³, com desvio padrão de 0,024 e CV de 5,40%. Quanto aos modelos de predição, o R^2 da calibração e de validação cruzada foram de 0,87 e 0,78, respectivamente. O erro padrão de calibração e o da calibração cruzada foram de 0,007 0,098 g/cm³, respectivamente, sendo que, para a razão do desvio padrão e do erro padrão da validação a relação do desempenho e desvio foi de 2,40. A relação do valor da densidade aparente do lenho mensurado e predito (Figura 17) indica pequena diferença ou, ainda, a angulação entre a linha de tendência da regressão e a *target line* é pequena.

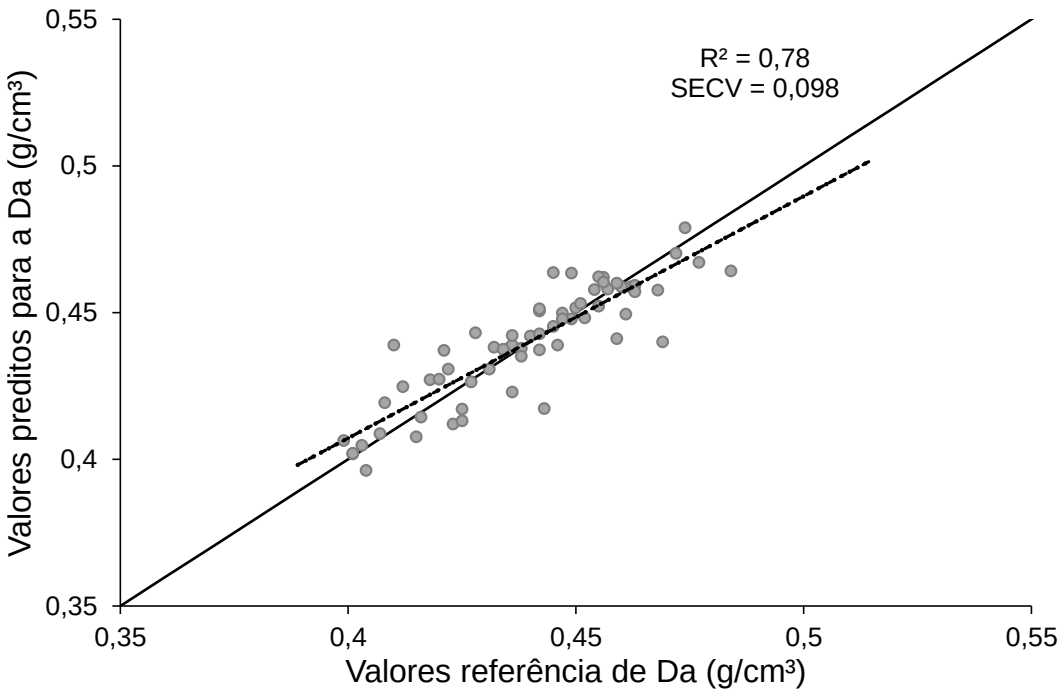


Figura 17 - Relação do valor da densidade aparente do lenho das árvores de eucalipto: mensurados e preditos

O RPD obtido foi abaixo de 3, pelo menor número de amostras do lenho das árvores de eucalipto. Certamente, uma análise com maior número de amostras do lenho resultaria em um modelo de predição mais robusto, embora os resultados podem ser considerados interessantes.

Gouvêa (2011) analisando a densidade aparente do lenho de amostras de painéis de madeira mistos, aplicando a espectroscopia NIR, obteve resultado próximo ao do presente trabalho. O R^2 da calibração e da validação cruzada foi de 0,86 e 0,83, respectivamente, o erro padrão da calibração de 0,013 g/cm³ e o da validação cruzada de 0,015 g/cm³ com um RPD de 2,19, inferior do presente trabalho. Avaliando a densidade básica do lenho de árvores de *E. camaldulensis,* de 5 anos, Inagaki (2011) obteve R^2 da validação cruzada de 0,90 e RPD acima de 3. Por outro lado, Hein (2009) analisando o lenho de *E. urophylla* e de *E. grandis* obteve um modelo próximo ao do presente trabalho, com R^2 da validação cruzada de 0,82 g/cm³ e RPD de 2,4. A análise da densidade básica do lenho de *E. globulus* e de *E. delegatensis*, realizada por Schimleck (1999, 2001) indicou o valor de R^2 da calibração de 0,80 e de 0,67, respectivamente. Alves (2012) estudando a predição da densidade básica do lenho do tronco das árvores de *Pinus pinaster* determinou o valor de 3,3 de RPD (considerado alto) com R^2 da calibração de 0,95

5.3.2 Avaliação das propriedades anatômicas do lenho das árvores de eucalipto

A aplicação da espectroscopia NIR na análise da madeira é recomendada pelo rápido preparo das amostras do lenho, da obtenção dos espectros, etc. (TSUCHIKAWA; SCHWANNINGER, 2013). Desta forma, foram testados os modelos dos parâmetros anatômicos de qualidade do lenho (Tabela 15) com outros parâmetros mensurados em laboratório, utilizados como referência no desenvolvimento dos modelos de predição.

Tabela 15 - Dados da calibração e da validação cruzada com espectros NIR para a predição das propriedades anatômicas do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos

Propriedade	N	Valor mínimo	Valor máximo	Valor médio	sd	CV
EP (µm)	70	1,81	5,42	3,26	0,86	24,05
FP (%)	70	23,72	65,48	42,5	9,75	22,92
CF (%)	70	35,65	76,33	58,02	9,57	16,49
IE	70	31,47	66,57	45,48	8,1	17,81
IR	70	0,31	1,81	0,76	0,32	41,61

EP: espessura da parede; FP: fração parede; CF: coeficiente de flexibilidade; IE: Índice de enfeltramento; IR: Índice de Runkel

Com esse objetivo, no desenvolvimento dos modelos de predição das propriedades de qualidade do lenho foi utilizado um conjunto de amostras do lenho com diferentes pré-tratamentos. Os resultados indicaram que os melhores tratamentos espectrais e os fatores PLS de cada propriedade do lenho foram, para espessura da parede, fração parede, índice de Runkel e índice de enfeltramento: SNV + 2ª derivada com 12 fatores PLS, para o parâmetro coeficiente de flexibilidade (%) SNV + 2ª derivada com 6 fatores PLS.

A Tabela 16 apresenta a tentativa de predição de outros parâmetros da qualidade do lenho utilizando as 70 amostras do lenho das árvores de eucalipto dos eventos modificados e dos clones comerciais. Analisando o R^2 da validação cruzada e o RPD_{cv}, o modelo de predição mais satisfatório foi para o parâmetro da fração

parede (FP) com R_{cv}^2 de 0,81 e RPD_{cv} de 2,01. O resultado obtido comprova a boa correlação entre esse parâmetro – fração parede e a densidade aparente do lenho. Segundo Williams (2014) com os valores de RDP atingidos, os modelos podem considerados fracos.

Tabela 16 - Dados da calibração e da validação cruzada com os espectros NIR para predição das propriedades anatômicas do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos

Propriedade	R^2_c	R^2_{cv}	SEC	SECV	RPD_{cv}	Média	N	sd	CV
EP (µm)	0,78	0,67	0,39	0,51	1,70	3,60	65	0,76	20,78
FP (%)	0,85	0,81	3,40	4,10	2,01	42,37	66	8,23	19,43
CF (%)	0,81	0,76	3,87	4,43	1,85	58,17	66	8,17	140,6
IR	0,84	0,76	0,11	0,13	1,85	0,74	67	0,24	32,18
IE	0,87	0,72	2,60	4,06	1,76	44,55	63	7,16	16,08

R^2c: coeficiente de determinação da calibração; R^2cv: coeficiente de determinação da validação cruzada; SEC: erro padrão da calibração; SECV: erro padrão da validação cruzada; RPD: relação de desempenho de desvio; Média: média dos valores observados sem os outliers; N: número de amostras; sd: Desvio padrão e CV: coeficiente de variação em %

A Figura 18 é representativa dos dados determinados em laboratório e utilizados como referência na análise e os dados preditos com modelos gerados a partir dos espectros NIR. Autores como Schimleck e Evans (2004) analisando a espessura da parede das fibras do lenho de árvores de *Pinus radiata* encontraram modelos com R^2 variando de 0,94 a 0,95 com RPD de 1,4 a 2,7. Enquanto isso, Viana (2008) analisando o lenho das espécies de árvores de eucalipto obteve modelo de predição da espessura da parede das fibras de R_{cv}^2 de 0,89 e RPD de 1,4, inferior ao encontrado nesse trabalho. Alguns autores, como Viana (2008) e Inagaki (2010) analisaram outros parâmetros da anatomia do lenho (comprimento, largura e diâmetro do lume das fibras) não atingindo modelos satisfatórios. Quanto

aos parâmetros, fração parede, coeficiente de flexibilidade, índice de Runkel e índice de enfeltramento das fibras do lenho de árvores de eucalipto, não foram encontradas informações na literatura.

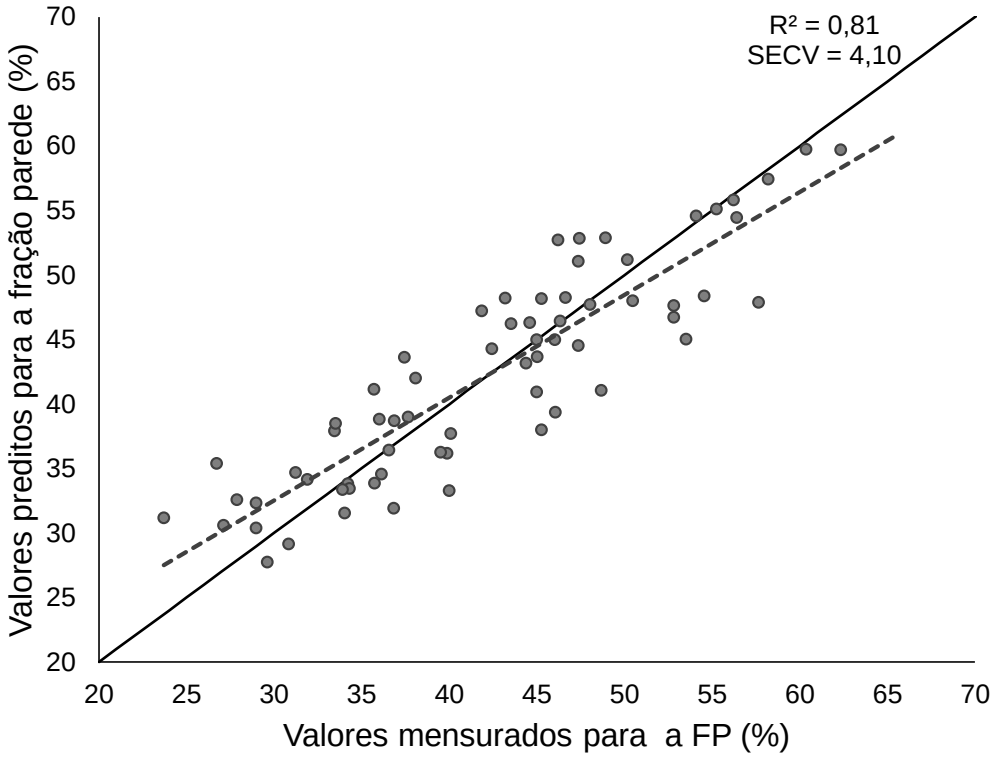


Figura 18 - Relação entre os valores mensurados e preditos para os parâmetros Fração parede (acima) e Índice de enfeltramento (abaixo) das fibras do lenho das árvores de eucalipto

5.3.3 Avaliação das propriedades químicas do lenho das árvores de eucalipto por espectroscopia NIR

Os resultados das análises laboratoriais do teor de celulose e lignina total do lenho das árvores, utilizados para ajustar modelos NIR, são apresentados na Tabela 17. Nesse sentido, a literatura relata os trabalhos científicos de estudos da predição das propriedades químicas do lenho a partir de ajuste de modelos NIR.

Assim, segundo Poke e Raymond (2006) a metodologia de refletância no NIR permite predizer, com segurança, as características físicas e químicas do lenho das árvores de eucalipto.

Ainda, o resultado da calibração e da validação cruzada PLS desenvolvidas para predizer o teor de lignina total e de celulose do lenho das árvores é apresentado na Tabela 18. Na análise da regressão foram identificados *outliers* a partir do grau de afastamento das amostras em relação à média na distribuição dos resíduos, sendo que para o teor de lignina total e de celulose foram retirados 2 e 5 *outliers*, respectivamente. A distribuição dos dados mensurados e preditos é representada na Figura 19.

Tabela 17 - Determinação do teor de lignina total e da celulose do lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos e a estatística do conjunto de amostras do lenho e o pré-tratamento espectral

Propriedade	N	Valor mínimo	Valor máximo	Valor médio	sd	CV	Pré-tratamento	Fat.
Lignina total (%)	50	29,21	43,14	35,35	3,47	9,82	SNV + 2ª derivada	12
Celulose (%)	45	31,72	62,9	47,81	7,68	16,05	SNV + 2ª derivada	12

Tabela 18 - Dados obtidos na calibração e validação cruzada com espectros NIR para predição das propriedade químicas do lenho

Propriedade	R^2_c	R^2_{cv}	SEC	SECV	RPD	Média	N	sd	CV
Lignina total (%)	0,82	0,68	1,42	1,91	1,25	35,50	47	2,80	8,31
Celulose (%)	0,92	0,85	1,79	2,56	2,45	49,84	40	6,26	12,59

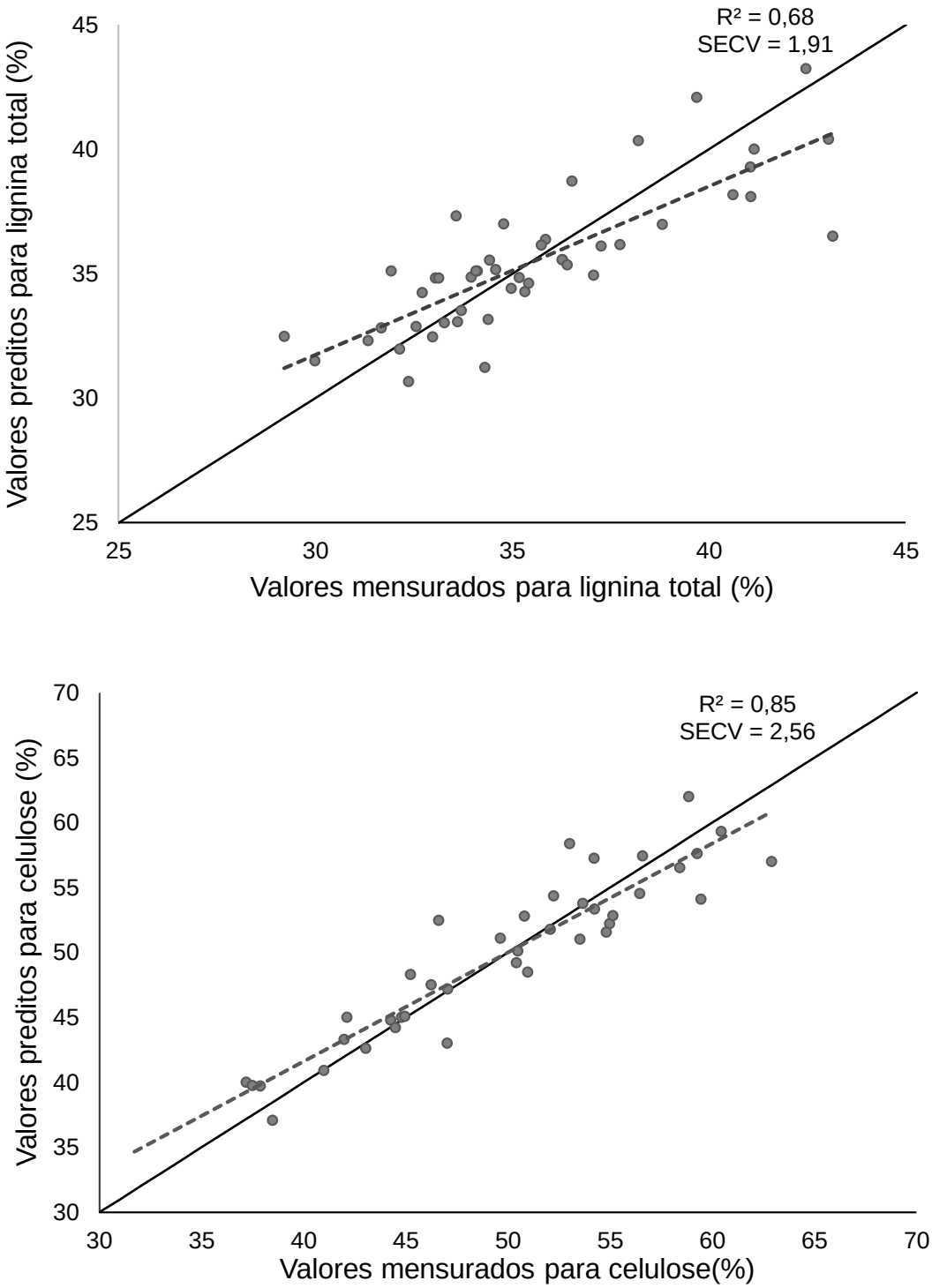


Figura 19 - Relação do valor mensurado e predito do teor de lignina total (A) e de celulose (B) do lenho das árvores de eucalipto

O modelo gerado de predição do teor de celulose foi mais satisfatório em relação ao modelo da lignina total, com base nos critérios de R^2, no erro padrão da validação e no RPD. Os valores de R_{cv}^2 foi de 0,68 e o de RPD_{cv} de 1,25 para a

lignina total, sendo um modelo fraco e não recomendável para a utilização no controle de processos.

Para Poke e Raymond (2006) os teores de lignina total e de celulose no lenho das árvores apresentam, no geral, uma relação moderada entre o valor determinado em laboratório e o predito pelo NIR. No lenho de árvores de *E. urograndis*, Bailleres (2002) analisou a predição da lignina, R^2 da validação de 0,87 e de RPD de 2,3. Viana (2008) avaliando o lenho de árvores de eucalipto gerou um modelo mais robusto para o teor de lignina, com o valor de RPD de 3,1. Ainda, Poke e Raymond (2006) obtiveram para o lenho de árvores de *E. globulus* valor próximo ao indicado, sendo para a lignina o valor de R^2 da calibração foi de 0,76, com erro de 1,07 para a lignina Klason e para a celulose o valor de R^2 da calibração de 0,88 e com erro de 1,14. Schimleck et al. (2004) encontraram para o lenho de árvores de *E. nitens* o valor de R^2 da validação para o teor de celulose entre 0,40 e 0,8. Por outro lado, Viana (2008) obteve R^2 da calibração de 0,83 e um RPD de 2,00, pouco inferior ao do presente trabalho. Para a madeira do híbrido *E. urophylla x E. grandis,* Bailleres (2002) obteve para a lignina Klason (%) um erro padrão da validação cruzada de 0,37 e de RPD de 2,3. Infere-se pelos resultados das análises e pela literatura que o modelo de predição pode ser aprimorado com o aumento do número de amostras do lenho e pelo rigor das análises laboratoriais.

5.4 Caracterização química do lenho das árvores de eucalipto

O resultado da análise da caracterização química do lenho das árvores de eucalipto no 12º mês dos eventos e dos clones comerciais, em grupos de comparação, é apresentado na Tabela 19. Nesta análise, os resultados das análises do lenho das árvores do evento 24 e do o Grupo 2 de comparação (evento 30 e clone convencional 47) não foram incluídos. Assim, de modo geral, os grupos não apresentam diferença significativa no teor dos componentes químicos para os tratamentos, exceto para a % de celulose do Grupo 1 de comparação.

O maior e menor valor de **lignina solúvel** médio do lenho das árvores foi de 1,54 e de 1,35 %, respectivamente, para o evento 130 e para o evento transformado, embora sem diferença significativa. Para a **lignina total** do lenho das árvores, o maior e o menor teor foi 40,16 e de 31,85% para os eventos 16 e 93, respectivamente.

Tabela 19 - Valor médio da lignina solúvel, lignina total e celulose do lenho das árvores de eucalipto dos eventos e dos clones comerciais, no 12º mês

Grupo	Tratamento	Lignina solúvel	Lignina total	Celulose
			%	
1	**15**	-	36,94 a	52,18 a
	16	-	40,16 a	44,52 ab
	17	-	39,08 a	40,66 b
3	**52**	1,44 a	34,37 a	47,45 a
	64	1,47 a	34,70 a	46,63 a
	92	1,43 a	33,78 a	-
	93	1,35 a	31,85 a	42,30 a
	94	-	-	40,69 a
4	**130**	1,54 a	36,76 a	51,73 a
	138	1,38 a	32,53 a	56,62 a
	145	1,41 a	33,28 a	55,22 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si teste de Tukey 0,05%.

O sinal "–"representa tratamentos não analisados pelo laboratório. Os tratamentos em negrito são os eventos geneticamente modificados.

Para a **celulose** não houve diferença significativa no lenho das árvores de eucalipto dos tratamentos dos Grupos 3 e 4; o valor médio de celulose do lenho mais elevado foi de 55,22% no grupo 4 para o clone 145 e de 56,62% para o evento 138. No lenho das árvores de eucalipto do evento GM 15 do grupo 1 obteve-se o valor médio de 52,18% **de celulose** com diferença significativa para o evento 16 (44,52 %) e o clone convencional 17 (40,66 %). Pode-se inferir pelo valor médio da análise de grupos, que a **% de celulose** foi maior no lenho das árvores de eucalipto dos eventos modificados em relação ao dos clones; a % lignina foi similar no lenho das árvores ao 12º mês, recomendando-se que as análises do lenho sejam feitas para o lenho das árvores em idade mais avançada.

Na literatura especializada, Castro (2014) determinou para o lenho de árvores de *E. grandis* ao 36º mês, valor superior de lignina solúvel e inferior para o total de lignina, de 2,45 e 26,52%, respectivamente. Ainda, Franco (2014) obteve valor de 1,97% de lignina solúvel e 27,45 % de lignina total; Trugilho (1996) obteve para o

lenho das árvores de *E. saligna* ao 12º mês a % de lignina total de 27,03 e de holocelulose de 68,56 %; a soma da % de lignina total e do teor de celulose indica variação de 74,15 a 89,15, considerado alto, inferindo-se que a % de hemicelulose, de extrativos e de cinzas deve ser baixo. Na análise do lenho das árvores de 10 clones de eucalipto, Gomide (2005) encontrou teor de lignina solúvel superior (3,70%) e para a lignina total inferior (29,30%). O teor de celulose foi similar ao do presente estudo, sendo de 45,97%, próximo ao teor de celulose do lenho das árvores dos tratamentos eventos. A literatura menciona a tendência à estabilização do teor de lignina, da holocelulose, dos extrativos e das cinzas no lenho adulto do tronco das árvores de idade mais avançadas, com maior % de lenho adulto. Dessa maneira, é interessante realizar a análise química do lenho das árvores de eucalipto, em idade mais avançada para determinar a variação dos seus componentes químicos (TRUGILHO, 1996).

6 CONCLUSÕES

As *propriedades anatômicas do lenho* das árvores de eucalipto não apresentaram variações significativas entre tratamentos, exceto para o diâmetro dos vasos, superior para os eventos; em *relação aos grupos*, no lenho das árvores de eucalipto do grupo 1 verificou-se o maior comprimento das fibras; nas do grupo 2 a maior largura e o diâmetro do lume das fibras; nas do grupo 4 a maior espessura da parede das fibras; o diâmetro tangencial do vasos foi menor no lenho dos clones comercias e a menor frequência dos vasos nos dos grupos 3 e 4;

Em relação às *propriedades das fibras*, no lenho das árvores dos grupos 1 e 2 mostraram menor rigidez, capacidade de interligação, boa resistência ao rasgo e ao arrebentamento; a *densidade do lenho* das árvores não mostrou diferença significativa, sendo o maior valor relacionado com a maior espessura da parede das fibras nas plantas do grupo 4;

O *resultado do modelo NIR* foi satisfatório para a fração parede, densidade e teor de celulose do lenho; não houve variação significativa na *análise química do lenho* para o componente lignina, para o teor de celulose, apenas o grupo 1 apresentou diferença estatística significativa, resultado interessante para o rendimento no processo industrial.

O lenho das árvores dos eventos modificados e dos clones comerciais mostrou pequenas diferenças nas características anatômicas e físicas, sendo *caracterizado como lenho juvenil*; assim as árvores devem ser analisadas em idades mais avançadas, com *lenho de transição e adulto.*

REFERÊNCIAS

ABRAMSON, M.; SHOSEYOV, O.; SHANI, Z. Plant cell wall reconstruction toward improved lignocellulosic production and processability. **Plant Science**, Ireland, v. 178, n. 2, p. 61–72, 2010.

ACHENBACH, J. 107 Nobel laureates sign letter blasting Greenpeace over GMOs, Washington, jun. 2016. Disponível em: < https://www.washingtonpost.com/news/speaking-of-science/wp/2016/06/29/more-than-100-nobel-laureates-take-on-greenpeace-over-gmo-stance/> Acesso em: 08/08/2016.

ACUNA, A.; MURPHY, G. Use of near infrared spectroscopy and multivariate analysis to predict wood density of Douglas fir. **Revista Bosque**, Santiago, v. 28, n. 3, p. 187–197, 2007.

ALVES, A.; SCHWANNINGER, M.; PEREIRA, H.; RODRIGUES, J. Calibration of NIR to assess lignin composition (H/G ratio) in maritime pine wood using analytical pyrolysis reference method. **Holzforschung**, New York, v. 60, n. 1, p. 29–31, 2006.

ALVES, A.; SIMÕES, R.; SANTOS, C.; POTTS, B.M.; RODRIGUES, J.; SCHWANNINGER, M. Determination of *Eucalyptus globulus* wood extractives content by near infrared-based partial least squares regression models: comparison between extraction procedures. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Lisboa, v. 20, n. 2, p. 275, 2012.

ALZATE, S.B.A. **Caracterização da madeira de árvores de clones de *Eucalyptus grandis, E. saligna* e *E. grandis x urophylla***. 2004. 133 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Produtos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ALZATE, S.B.; TOMAZELLO FILHO, M.; PIEDADE, S.M.S. Variação longitudinal da densidade básica da madeira de clones de *Eucalyptus grandis*, *E. saligna* e *E. grandis x uropylla*. **Scientia Forestalis,** Piracicaba, n. 68, p. 87-95, ago. 2005.

AMARAL, A.C.B. **Implantação da metodologia de densitometria de raios X em madeira**. 1994. 143 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade São Paulo, Piracicaba, 1994.

AMARAL, A.C.B.; TOMAZELLO FILHO, M. Avaliação das características dos anéis de crescimento de *Pinus taeda* pela microdensitometria de raios X. **Revista Ciência e Tecnologia**, Piracicaba, v. 11/12, n. 6, p. 17-23, 1998.

ANDRADE, E.N. **O Eucalipto**. Jundiaí: Companhia Paulista de Estradas de Ferro, 1961. 667 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELULOSE E PAPEL. **Dados do setor ano base 2013.** São Paulo, 2014. Disponível em: <http://bracelpa.org.br/bra2/sites/default/files/estatisticas/booklet.pdf>. Acesso em 20 maio 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7190:** projeto de estruturas de madeira. Rio de Janeiro, 1997. 107 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS**.** **Anuário estatístico ABRAF 2013 ano base 2012**. Brasília, 2013. 148 p.

BAILLÈRES, H.; DAVRIEUX, F.; HAM-PICHAVANT, F. Near infrared analysis as a tool for rapid screening of some major wood characteristics in a eucalyptus breeding program**. Annals of Forest Science**, Nancy, v. 59, p. 479-490, 2002.

BALDI, F. Il processo di produzione delle paste chimiche e il loro trattamento. In: CORSO DI TECNOLOGIA PER TECNICI CARTARI, 8., 2001.Verona. **Annali...** Verona: Scuola Interregionale di Tecnologia per Tecnici Cartari, 2001. p. 1-41.

BALLARIN, A.W.; PALMA, H.A.L. Propriedades de resistência e rigidez da madeira juvenil e adulta de *Pinus taeda* L. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 371–380, 2003.

BARRICHELO, L.G.; BRITO, J.O. Potencialidade de espécies tropicais de eucalipto para a produção de celulose sulfato branqueada. **IPEF Série Técnica**, Piracicaba, n. 13, p. 9–38, 1976.

BENJAMIN, C.A. **Estudo da estrutura anatômica e das propriedades físicas e mecânicas da madeira de *Corymbia (Eucalyptus) citriodora* e *Eucalyptus grandis***, 2006. 180 p. Tese (Doutorado em Energia na Agricultura) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agronômicas Campus Botucatu, Botucatu, 2006.

BRASIL. Leis, decretos, etc. **Lei n° 11.105, de 24 de março de 2005.** Estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB. Brasília, 2005. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11105.htm>. Acesso em: 20 jun. 2014.

_____. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. **Proposta para liberação comercial do eucalipto geneticamente modificado:** evento H421. Brasília: FuturaGene Brasil Tecnologia, 2014. 172 p.

BRASIL, M.A.M.; FERREIRA, M. Características das fibras da madeira de *Eucalyptus grandis*, aos 3 anos de idade. **Revista IPEF**, Piracicaba, n. 19, p. 79-80, dez.1979.

BRASILEIRO, A.C.M.; DUSI, D.M.A. Transformação genética de plantas. In:/ TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: Embrapa, SPI; Embrapa, CNPH, 1999. p. 679-735.

BRASILEIRO, A.C.M.; LACORTE, C. *Agrobacterium*: Um sistema natural de transferência de genes para plantas**. Revista Biotecnologia – Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n. 15, p. 12-15, jul./ago. 2000.

BRINKMANN, K.; BLASCHKE, L.; POLLE, A. Comparison of different methods for lignin determination as a basis for calibration of near-infrared reflectance spectroscopy and implications of lignoproteins. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 28, n. 12, p. 2483-2501, Dec. 2002.

BRISOLA, S.H.; DEMARCO, D. Stem anatomical analysis of *Eucalyptus grandis, E. urophylla and E. grandisxurophylla:* wood development and its industrial importance. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 39, n. 91, p. 317–330, 2011.

BURGER, L.M.; RICHTER, H.G. **Anatomia da madeira.** São Paulo: Nobel, 1991. 154 p.

BURNS, D.A.; CIURCZAK, E.W. **Handbook of Nirs analysis**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. 836 p.

CASTELO, P.A.R. **Avaliação da qualidade da madeira de *Pinus taeda* em diferentes sítios de crescimento e espaçamentos, através do método não destrutivo de emissão de ondas de tensão**, 2007. 137 p. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

CASTRO, V.R. **Efeitos do potássio, sódio e da disponibilidade hídrica no crescimento e qualidade do lenho de árvores de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden**. 2014. 141p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

CHAGAS, M.P. **Anéis de crescimento do lenho de árvores como monitores ambientais:** avaliação temporal e espacial da poluição atmosférica na cidade de Paulínia, São Paulo. 2013. 159 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

COSTA, A.J. **Qualidade da madeira de *E. urograndis* plantado no Distrito Federal, para a produção de celulose Kraft**. 2011. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília. Brasília, 2001.

COSTA FILHO, P.A. **Estudo comparativo entre técnicas de inteligência artificial e modelos lineares em determinações quantitativas no infravermelho próximo**. 2003. 110 p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

CRUZ, C.R. **Caracterização da madeira de clones de *Eucalyptus* para utilização na indústria madeireira**. 2000. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

DELATORRE, A.C.; SILVA, A.A. *Arabidopsis thaliana*: uma pequena planta um grande papel *Arabidopsis thaliana:* A small plant a big role. **LUME - Repositório**

digital, Lisboa, v. 31, n. 2, p. 58–67, dez. 2008. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/107298>. Acesso em: 12 nov. 2014.

DESLAURIERS, A.; ANFODILLO, T.; ROSSI, S; CARRARO, V. Using simple causal modeling to understand how water and temperature affect daily stem radial variation in trees. **Tree Physiology**, Victoria, v. 27, n. 8, p. 1125–1136, 2007.

DESLAURIERS, A.; MORIN, H.; URBINATI, C.; CARRER, M. Daily weather response of *Abies balsamea* stem radius increment from dendrometer analysis in the boreal forests of Québec. **Trees – Structure and Function**, Berlin, v. 17, n. 6, p. 477-484, 2003.

DEGENHARDT, J. **Transgenia de espécies florestais:** estado atual da pesquisa. 2014. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=20794&secao=Artigos%20Especiais>. Acesso em: 18 abr. 2014.

DOMINGUES, D.S. Identificação de marcador RAPD e SCAR relacionados ao caractere florescimento precoce em *Eucalyptus grandis*. **Ciência Florestal**, Cascavel, v. 16, n. 3, p. 251-260, 2006.

DOWNES, G.; HUDSON, I.L.; RAYMOND, C.A.; DEAN, G.H.; MICHELL, A.J.; SCHMILECK, L.R.; EVANS, R.; MUNERI, A. **Sampling plantation eucalypts for wood and fibre properties**. Collingwood: CSIRO Publ., 1997. 132 p.

FAO. **Forests and genetically modified trees**. Rome, 2010. 240 p.

_____. **FAO statistical book 2013**. Rome, 2013. 307 p.

FAXITRON X-RAY. **Model LX-60 technical manual**. Lincolnshire, 2009. 82 p.

FERRAZ, E.S.B.; TOMAZELLO FILHO, M. Uso de métodos nucleares no estudo da qualidade da madeira. **Revista Silvicultura**, São Paulo, n. 14, p.17-27, 1978.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introduccion al uso de marcadores moleculares em el analisis genético.** Brasília: Embrapa, Cenargen, 1998. 221 p.

FLORSHEIM, S.; COUTO, H.T.Z.; LIMA, I.L.; LONGUI, E.L. Variação nas dimensões dos elementos anatômicos da madeira de *Eucalyptus dunnii* aos sete anos de idade. **Revista Instituto Florestal**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 79–91, 2009.

FOELKEL, C.E.B. Madeira de eucalipto: da floresta para o digestor. **Boletim Informativo IPEF**, Piracicaba, v. 6, n. 20, p. E.1-E.25, nov. 1978.

FOELKEL, C.E.B.; BARRICHELO, L.E.G. **Tecnologia de celulose e papel**. Piracicaba: CALQ, 1975. 207 p.

FOELKEL, C.E.B.; ZVINAKEVICIUS, C.; ANDRADE, J.O.M. Avaliação da qualidade da madeira de *Eucalyptus saligna* e *Eucalyptus grandis* afetados por cancro. In:

CONGRESSO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELULOSE E PAPEL, 9., 1976, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ABCP, 1976. v. 2, p. 255-266.

FRANCO, M.P. **Efeito da substituição do potássio pelo sódio em árvores de *Eucalyptus grandis*, visando a expansão das plantações florestais sob condições de estresse hídrico.** 2014. 153p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

FUJIMOTO, T.; KOBORI, H.; TSUCHIKAWA, S. Prediction of wood density independently of moisture conditions using near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Chichester, v. 20, p. 353-359, 2012.

GAVA, J.L. Efeito da adubação potássica em plantios de *E . grandis* conduzidos em segunda rotação em solos com diferentes teores de potássio trocável. **Série Técnica IPEF,** Piracicaba, v. 11, n. 30, p. 89–94, 1997.

GIRIJASHANKAR, V. Genetic transformation of eucalyptus. **Physiology and Molecular Biology of Plants,** New Delhi, v. 17, n. 1, p. 9-23, Jan./Mar. 2011.

GOMIDE, J.L.; FANTUZZI NETO, H.; LEITE, H.G. Estratégia de análise da qualidade de madeira de *Eucalyptus* sp. para produção de celulose. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 443–450, 2004.

GONZÁLEZ, E.R. **Transformação genética de *Eucalyptus grandis* e do híbrido *E. grandis x E . urophylla* via *Agrobacterium***, 2002. 93 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

GOUVÊA, A.F.G.; TRUGILHO, P.F.; GOMIDE, J.L.; SILVA, J.R.M.; ANDRADE, C.R.; ALVES, I.C.N. Determinação da densidade básica da madeira de *Eucalyptus* por métodos não destrutivos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 35, n. 2, p. 349- 358, 2011.

HÄGGMAN, H.; RAYBOULD, A.; BOREM, A.; FOX, T.; HANDLEY, L.; HERTZBERG, M.; LU, M.Z.; MACDONALD, P.; OGUCHI, T.; PASQUALI, G.; PEARSON, L.; PETER, G.; QUEMADA, H.; SÉQUIN, A.; TATTERSALL, K.; ULIAN, E.; WALTER, C.; McLEAN, M. Genetically engineered trees for plantation forests: key considerations for environmental risk assessment. **Plant Biotechnology Journal,** Oulu, v. 11, n. 7, p. 785-798, 2013.

HANSEN, G.; WRIGHT, M.S. Recent advances in the transformation of plants**.** **Trends in Plant Science**, v. 4, p. 226-231, 1999. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10366879> Acessado em: 17 abr. 2014.

HEIN, P.R.G**. Avaliação das propriedades da madeira de *Eucalyptus urophylla* por meio da espectroscopia no infravermelho próximo.** 2008. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

HEIN, P.R.G.; CAMPOS, A.C.M.; TRUGILHO, P. F.; LIMA, J.T.; CHAIX, G. Near infrared spectroscopy for estimating wood basic density in *Eucalyptus urophylla* and *Eucalyptus grandis*. **Revista Cerne**, Lavras, v. 15, p. 133–141, 2009.

HILLS, W.E.; BROWN, A.G. ***Eucalyptus* for wood production.** Sydney: Academic Press, 1984. 434 p.

INAGAKI, T.; SCHWANNINGER, M.; KATO, R.; KURATA, Y.; THANAPASE, W.; PUTHSON, P.; TSUCHIKAWA, S. *Eucalyptus camaldulensis* density and fiber length estimated by near-infrared spectroscopy. **Wood Science and Technology**, New York, v. 45, n. 1/3, p. 143-155, 2010.

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Relatório IBÁ 2015**. São Paulo, 2015. 80 p.

INTERNATIONAL ASSOCIATION OF WOOD ANATOMISTS COMMITTEE. IAWA list of microscopic features for hardwood identification. **IAWA Bulletin,** Leiden, v. 10, n. 3, p. 219-332, 1989.

JOHANSEN, D. **Plant microtechnique**. New York: MacGraw-Hill Book, 1940. 450 p.

JORGE, F.; PEREIRA, H. Influência da silvicultura na qualidade da madeira. **Revista Florestal**, Lisboa, v. 11, n. 2, p. 27-31, jul./dez.1998.

JOZSA, L.A.; MIDDLETON, G.R. **A discussion of wood quality attributes and their practical implications.** Vancouver: Forintek Canada Corp. 1994. 42 p. (Special Publication, 34).

KLÜMPER, W.; QAIM, M. A meta-analysis of the impacts of genetically modified crops. **PLoS ONE.** Goettingen, v. 9, n. 11, p. 1–7, 2014.

KOEHLER, L.; TELEWSKI, F.W. Biomechanics and transgenic wood. **American Journal of Botany**, Michigan, v. 93, n. 10, p. 1433–1438, Oct. 2006.

KOLLMANN, F.F.P.; COTÊ, W.A. **Principles of wood science and technology**. Berlin: Springer-Verlag, 1968. v. 1, 592 p.

LABRA, M.; VANNINI, C.; GRASSI, F. Genomic stability in *Arabidopsis thaliana* transgenic plants obtained by floral dip. **Theoretical and Applied Genetics**, Milan, v. 109, n. 7, p. 1512–1518, 2004.

LATORRACA, J.V.; ALBUQUERQUE, C.E.C. Efeito de rápido crescimento sobre as propriedades da madeira. **Revista Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 7, n. 1, p. 279-291, 2000.

LEITE, M.K. **Caracterização tecnológica da madeira de *Corymbia maculata*, *Eucalyptus cloeziana* e *E. resinífera* para a aplicação no design de produtos de maior valor agregado (PMVA).** 2013. 130 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

LIMA, W.P. **Impacto ambiental do eucalipto.** 2. ed. São Paulo: EDUSP, 1996. 301 p.

LUCAS, A.M. **Estudo comparativo de extratos voláteis de eucaliptos geneticamente modificados e não geneticamente modificados.** 2011, 76 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MALAN, F.S. *Eucalypts* improvement for lumber production. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL E UTILIZAÇÃO DA MADEIRA DE EUCALIPTO PARA SERRARIA, 1, 1995, São Paulo. **Anais...** Piracicaba: IPEF; IPT; IUFRO; ESALQ, 1995. p. 1-19.

MANLY, B.J.F. **Métodos estatísticos multivariados**: uma introdução. 3. ed. Tradução de S.L. Carmona. Porto Alegre: Bookman, 2008. 229 p.

MANTERO, C.; FERNÁNDEZ, V.; ROS, A. Anatomía, peso específico aparente de la madera y porcentaje de corteza en orígenes de dos especies de. **Agrociencia**, Montevideu, v. 12, p. 20–30, 2008.

MARTINI, A.J. **História, geografia e meio ambiente.** Disponível em: <http://www.canalrioclaro.com.br/colunas/?coluna=61>. Acesso em: 18 mar. 2015.

MELLO, E.J. Benefícios da transformação genética: só para a agricultura? **Revista Opiniões,** Ribeirão Preto, n. 41, p. 16-18, set./nov. 2015.

MELLO, E.J. A Suzano, o eucalipto geneticamente modificado e a FuturaGene. **Celulose Online,** Ribeirão Preto, mar. 2016. Disponível em: <http://celuloseonline.com.br/suzano-o-eucalipto-geneticamente-modificado-e-futuragene/>. Acesso em: 21 abr. 2016.

MOGOLLÓN, G.; AGUILERA, A. **Guia teórica y prática de morfologia de la fibra**. Mérida: Universidad de Los Andes, Bogotá, 2002. 48 p.

MORA, A.L.; GARCIA, C.H. **A cultura do eucalipto no Brasil.** São Paulo: SBS, 2000.112 p.

MORA, C.R.; SCHIMLECK, L.R. Determination of specific gravity of green *Pinus taeda* samples by near infrared spectroscopy: comparison of pre-processing methods using multivariate figures of merit. **Wood Science Technology,** Athens, v. 43, p. 441-456, Nov. 2008.

NICOLIA, A.; MANZO, A.; VERONESI, F.; ROSELLINI, D. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. **Critical reviews in biotechnology**, Rome, v. 34, n. 1, p. 1–12, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24041244>.

NISGOSKI, S.; MUÑIZ, G.I.B.; KLOCK, U. Caracterização anatômica da madeira de *Eucalyptus benthamii*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 67-76, 1998.

OLIVEIRA, B.R.U. **Dendrocronologia e análise da variação radial da densidade do lenho de árvores de *Tectona grandis* L.f., do município de Cárceres**, MT. 2011. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

OLIVEIRA, B.R.U.; LATORRACA, J.V.F.; TOMAZELLO FILHO, M.; PALERMO, G.P.M.; CARVALHO, A.M.; PASTRO, M.S. Microdensitometria de raios X aplicada na determinação da variação da densidade do lenho de árvores de *E. grandis*. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 40, n. 93, p. 103-112, mar. 2012.

OLIVEIRA, J.T.S.; HELLMEISTER, J.C. **Caracterização da madeira de eucalipto pra a construção civil.** São Paulo: USP, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia de Construção Civil, 1998. 52 p. (Boletim Técnico, 194).

PASQUALI, G. A liberação comercial do eucalipto transgênico. **Revista Opiniões,** Ribeirão Preto, n. 41, p. 16-18, set./nov. 2015.

PANSHIN, A. J.; DE ZEEUW, C. **Textbook of wood technology**. 4th ed. New York: Mcgraw-Hill, 1980.722 p.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 14, n.2, p. 198-219, Mar./Apr. 2003.

PAULA, J.E.; SILVA JÚNIOR, F.G.; SILVA, A.P.P. Caracterização anatômica de madeiras nativas de matas ciliares do centro-oeste brasileiro. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 58, p. 73–89, 2000.

PEREIRA, J.S.; LINDER, S.; ARAUJO, M.C.; PEREIRA, H.; ERICSSON, T.; BORRALHO N.; LEAL, L.C. Optimization of biomass production in *Eucalyptus globulus* plantations-a case study. In: PEREIRA, J.S.; LANDSBERG, J.J. (Ed.). **Biomass production by fast growing trees.** Dordrecht: Kluwer Academic, 1989. p. 101-121.

PFAUTSCH, S.; MACFARLANE, C.; EBDON, N.; MEDER, R. Assessing sapwood depth and wood properties in *Eucalyptus* and *Corymbia* spp. using visual methods and near infrared spectroscopy. **Trees - Structure and Function**, Berlin, v. 26, n. 3, p. 963–974, 2012.

POKE, F.S.; RAYMOND, C.A. Predicting extractives, lignin, and cellulose contents using near infrared spectroscopy on solid wood in *Eucalyptus globulus*. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, London, v. 26, n. 2, p. 187–199, 2006.

POLGE, H. **Établissement des courbes de variation de la densité du bois par exploration densitometrique de radiographies d'echantillons prélèves a la tarière sur des arbres vivants:** aplication dans les domaines technologique et physiologique. 1966. 206 p. Disponível em: < http://www.afs-journal.org/articles/forest/pdf/1966/01/AFS_0003-4312_1966_23_1_ART0001.pdf>. Acesso em: 04 maio 2016.

QMS. **Tree ring analyzer users guide:** model QTRS-01X. Knoxville, 1999. 72 p.

RESENDE, M.D.V. Melhoramento de essências florestais. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas.** Viçosa: UFV, 1999. p. 589-647.

_____. Seleção genômica ampla (GWS) e maximização da eficiência do melhoramento genético. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 56, p. 63-77, 2008.

ROSS, R.J.; BRASHAW, B.K.; PELLERIN, R.F. Nondestructive evaluation of wood. **Forest Products Journal**, Madison, v. 48, n. 1, p. 14-19, Jan. 1998.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system user's guide**; version 6.08. Cary, 1997. 1014 p.

SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 2nd ed. Iowa: State College Press, 1951. 350 p.

SCHIMLECK, L.R.; EVANS, R. Estimation of microfibril angle of increment cores by near infrared spectroscopy. **IAWA Journal**, Leiden, v. 23, n. 3, p. 225-234, 2002.

_____. Estimation of *Pinus radiata* tracheid morphological characteristics by near infrared spectroscopy. **Holzforschung**, Berlin, v. 58, p. 66-73, 2004.

SCHIMLECK, L.R.; EVANS, R.; ILIC, J. Estimation of *Eucalyptus delegatensis* wood properties by near infrared spectroscopy. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 31, n. 10, p. 1671–1675, 2001.

SCHIMLECK, L.R.; MICHELL, A.J.; RAYMOND, C.A.; MUNERI, A. Estimation of basic density of *Eucalyptus globulus* using near-infrared spectroscopy. **Canadian Journal of Forest Research**, Ottawa, v. 29, p. 194-201, 1999.

SETTE JUNIOR, C.R. **Aplicação de potássio e sódio no crescimento e na qualidade do lenho de árvores de *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden**. 2010. 151 p. Tese (Doutorado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SETTE JUNIOR, C.R.; TOMAZELLO FILHO, M.; DIAS, C.T.S.; LACLAU, J.P. Crescimento em diâmetro do tronco das árvores de *Eucalyptus grandis* e relação com as variáveis climáticas e fertilização mineral. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 6, p. 1183-1190, 2012.

SETTE JUNIOR, C.R.; TOMAZELLO FILHO, M.; DIAS, C.T.S.; CHAGAS, M.P.; LACLAU, J.P. Efeito da aplicação de potássio e sódio nas características do lenho de árvores de *Eucalyptus grandis* W. Hill aos 24 meses de idade. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 39, n. 3, p. 535-546, jul./set. 2009.

SETTE JUNIOR, C.R.; DEUS JUNIOR, J.C, TOMAZELLO FILHO, M.; PÁDUA, F.A, CALIL, F.N.; LACLAU, J.P. Alterações na qualidade da madeira de *Eucalyptus*

grandis causadas pela adubação mineral. **Cerne**, Lavras, v. 20, n. 2, p. 251-258, jun. 2014.

SHENK, J.S.; WORKMAN, J.J.J.; WESTERHAUS, M.O. Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In: BURNS, D.A.; CIURCZAK, E.W. (Ed.). **Handbook of near-infrared analysis.** New York: Marcel Dekker, 1992. p. 383–431.

SHEPPARD, N.; WILLIS, H.A.; RIGG, J.C. Names , symbols, definitions and units of quantities in optical spectroscopy. **Pure & Applied Chemistry**, London, v. 57, n. 1, p. 105–120, 1985.

SHIMOYAMA, V.R.S.; BARRICHELO, L.E.G. Importância da adubação na qualidade da madeira e celulose. In: SIMPÓSIO SOBRE ADUBAÇÃO E QUALIDADE DOS PRODUTOS AGRÍCOLAS, 1, 1989, Ilha Solteira. **Anais...** Ilha Solteira: UNESP, 1989. p. 1-15.

SILVA, J.C.; TOMAZELLO FILHO, M.; OLIVEIRA, J.T.S.; CASTRO, V.R. de. Influência da idade e da posição radial nas dimensões das fibras e dos vasos de madeira de *E. grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1081-1090, 2007.

SILVA, J.C.; OLIVEIRA, J.T.S.; TOMAZELLO FILHO, M.; KEINERT JR., S.; MATOS, J.L.M. Influência da idade e da posição radial na massa específica da madeira de *Eucalyptus grandis*. **Revista Floresta**, Paraná, v.34, n.1, p.13-22, jan./abr. 2004.

SILVA, M.E.C.M.; LOUZADA, J.L.P.C. Utilização da microdensitometria por raios X na avaliação qualitativa da madeira de *Populus x euramericana*. In: SIMPÓSIO DEL CHOPO, 1, 2001, Zamora. **Proceedings…** Zamora: UTAD, 2001. p. 469-478.

SILVA JÚNIOR, F.G.; BRAGRA, E.P. Potencialidade da seleção precoce de *Eucalyptus urophylla* em função da qualidade da madeira destinada à produção de celulose. In: CONGRESSO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL, 30, 1997, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ABTCP, 1997. p. 281-292.

SILVEIRA, E. Mais celulose por centímetro quadrado. **Revista Pesquisa FAPESP,** São Paulo, n. 204, p. 56-59, 2013.

SO, C.; LEBOW, S.T.; GROOM, L.H.; RIALS, T.G. The application of near infrared (NIR) spectroscopy to inorganic preservative-treated wood. **Wood and Fiber Science,** Madison, v. 36, n. 3, p. 329–336, 2004.

SPOKEVICIUS, A.V.; SOUTHERTON, S.G.; MACMILLAN, C.P. β-tubulin affects cellulose microfibril orientation in plant secondary fibre cell walls. **Plant Journal**, Oxford, v. 51, n. 4, p. 717–726, 2007.

STRAUSS, S.; BOERJAN, W.; CAIRNEY, J. Forest biotechnology makes its position known. **Nature Biotechnology**, London, v. 17, n. 12, p. 1145, 1999.

TAPPI TECHNICAL DIVISIONS AND COMMITTEES. **TAPPI test methods:** T 264 cm-97; preparation of wood for chemical analysis. Atlanta, 1997. 3 p.

TEULIERES, C. Transgenic *Eucalyptus.* In: BAJAJ, Y.P.S. **Biotechnology in agriculture and forestry:** transgenic trees. Berlin; Heidelberg; New York; New Delhi: Springer-Verlag, 2000, p. 88-102.

TOMAZELLO FILHO, M. Variação radial da densidade básica e da estrutura anatômica da madeira do *Eucalyptus saligna* e *Eucalyptus grandis*. **Revista IPEF**, Piracicaba, n. 29, p. 37-45, abr. 1985.

_____. Variação radial da densidade básica e da estrutura anatômica da madeira do *Eucalyptus globulus*, *E. pellita* e *E. acmenioides*. **Revista IPEF**, Piracicaba, n. 36, p. 35-42, ago. 1987.

_____. **Efeito da irrigação e fertilização nas propriedades do lenho de árvores de *Eucalyptus grandis x urophylla***. 2006. 135 p. Tese (Livre- Docência) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

TRUGILHO, P.F.; LIMA, J.T.; MENDES, L.M. Influência da idade nas características físico-químicas e anatômicas da madeira de *Eucalyptus saligna*. **Cerne**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 94-11, 1996.

TRUGILHO, P.F.; BIANCHI, M.L.; GOMIDE, J.L.; LIMA, J.T.;MENDES, L.M.; MORI, F.A.;GOMES, D.F.F. Clones de *Eucalyptus* versus a produção de polpa celulósica. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.15, n.2, p. 145-155.

TSOUMIS, G. **Science and technology of wood**: structure, properties, utilization. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 494 p.

TSUCHIKAWA, S. A review of recent near infrared research for wood and paper. **Applied Spectroscopy Reviews**, New York, v. 42, n. 1, p. 43-71, 2007.

TSUCHIKAWA, S.; KOBORI, H. A review of recent application of near infrared spectroscopy to wood science and technology. **Journal of Wood Science**, Tokyo, v. 61, n. 3, p. 213–220, 2015.

TSUCHIKAWA, S.; SCHWANNINGER, M. A review of recent near-infrared research for wood and paper (part 2). **Applied Spectroscopy Reviews,** New York, v. 48, n. 7, p. 560- 587, 2013.

TZFIRA, T.; ZUKER, A.; ALTMAN, A. Forest-tree biotechnology : genetic transformation and its application to future forests. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 16, n. 10, p. 439–446, Oct. 1998.

VALENZUELA, S.; BALOCCHI, C.; RODRÍGUEZ, J. Transgenic trees and forestry biosafety. **Electronic Journal Biotechnology,** Valparaíso, v. 9, n. 3, p. 335–339, 2006.

VIANA, L.C. **Uso da espectroscopia no infravermelho próximo para predição de propriedades tecnológicas da madeira de *Eucalyptus*.** 2008. 111 p. Dissertação

(Mestrado em Ciência e Tecnologia da Madeira) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

VIDAURRE, G.; LOMBARDI, L.R.; OLIVEIRA, J.T.D.S.; ARANTES, M.D.C. Lenho juvenil e adulto e as propriedades da madeira. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 4, p. 469–480, 2011.

WANG, S. Evaluation of transgenic wood for wood productivity and quality. In: AHINDRA NAG. **Biosystems engineering**. New York: The McGraw-Hill, 2010. p. 347-366.

WILLIAMS, P. The RPD statistics: a tutorial note. **NIR News**, Nanaimo, v. 25, n. 1, p. 22-23, 2014.

WORKMAN JR., J.; WEYER, L. **Practical guide to interpretive near-infrared spectroscopy**. Boca Raton: CRC Press, 2008. 332 p.

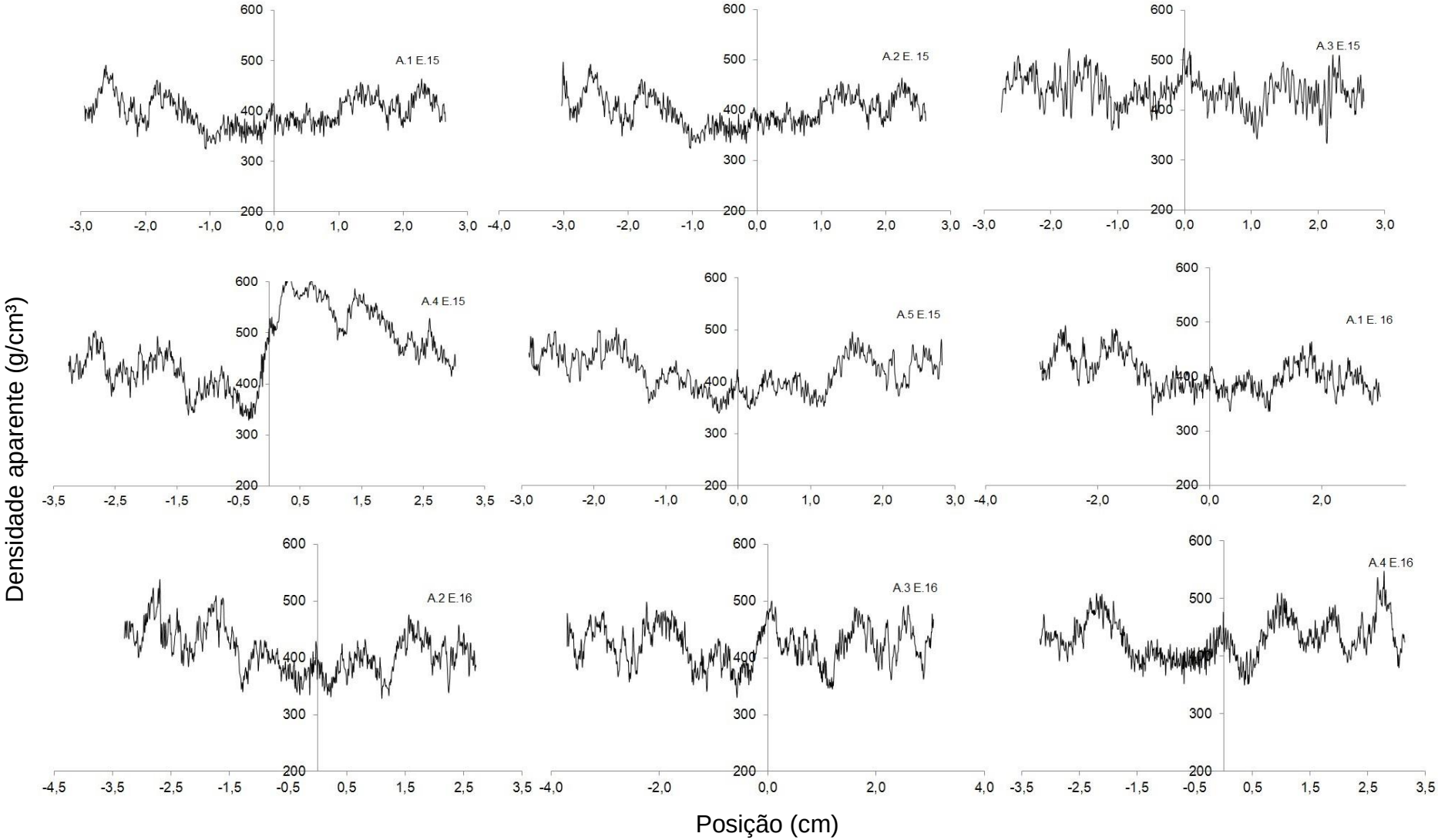
YAMADA, T.; YEH, T.F.; CHANG, H.M. Rapid analysis of transgenic trees using transmittance near-infrared spectroscopy (NIR). **Holzforschung**, New York, v. 60, n. 1, p. 24–28, 2006.

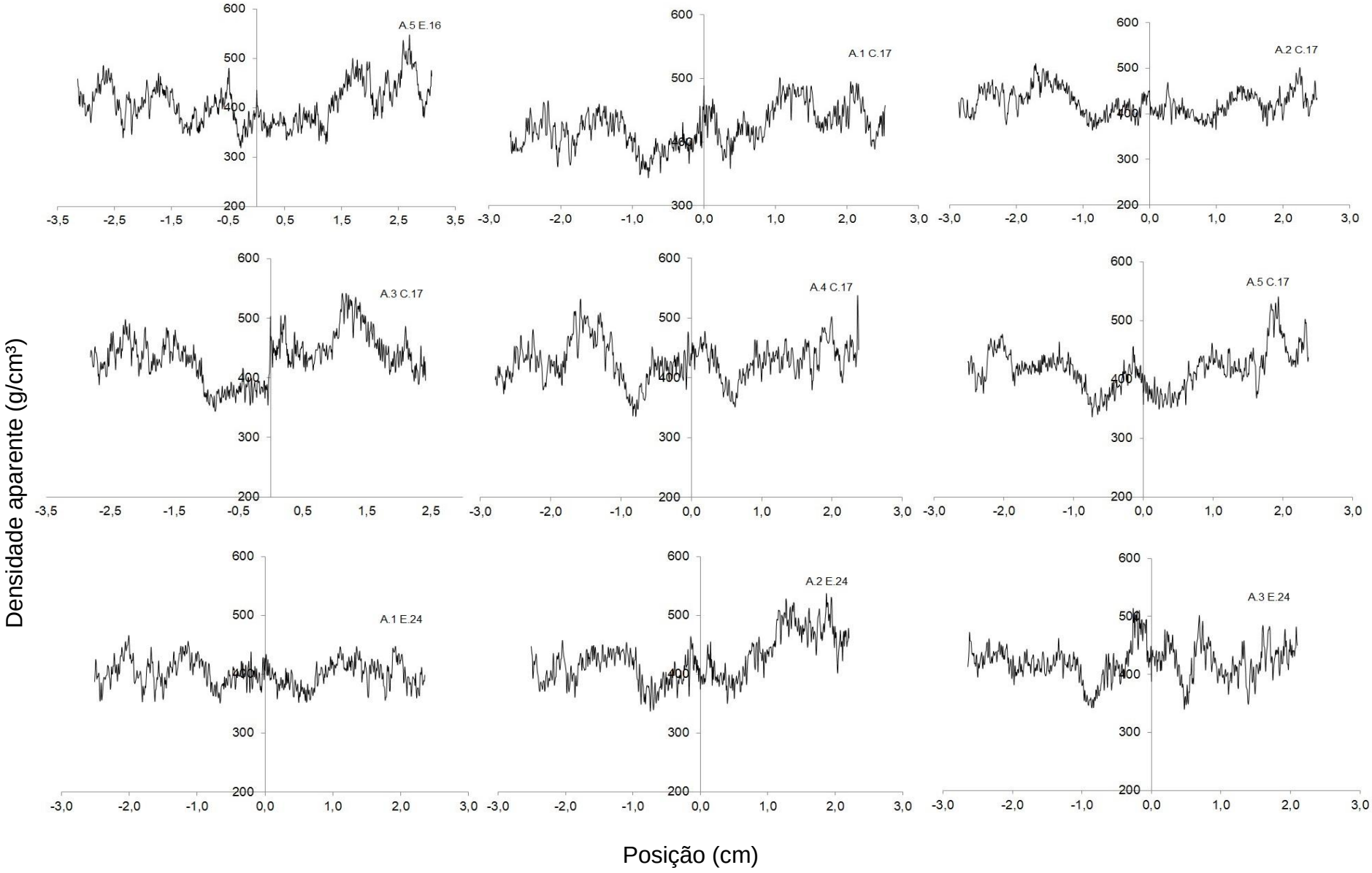
YAO, S.; WU, G.; XING, M.; ZHOU, S.; PU, J. Determination of lignin content in *Acacia spp*. using near-infrared reflectance spectroscopy. **BioResources**, Beijing, v. 5, n. 2, p. 556–562, 2010.

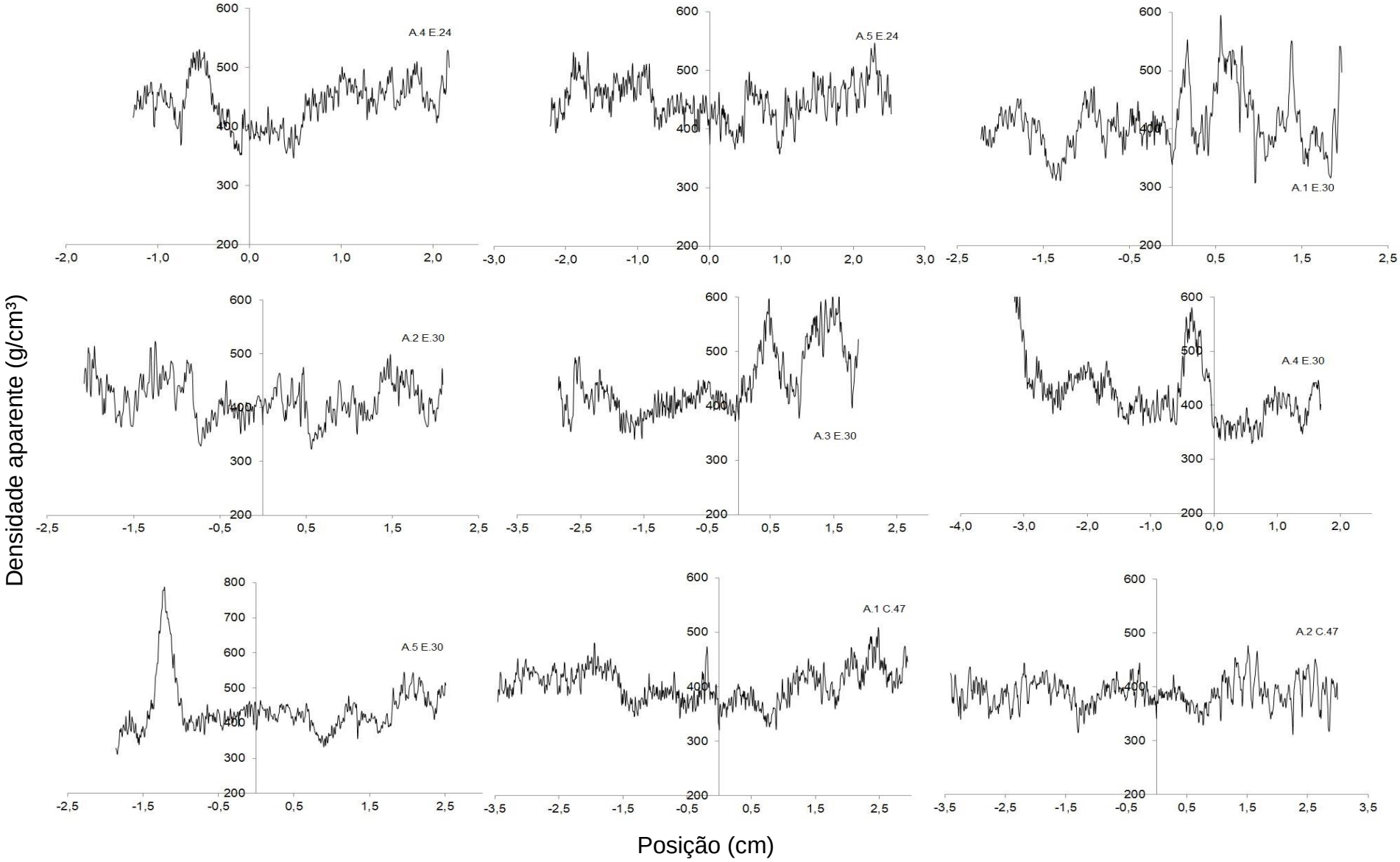
ZOBEL, B. J.; BUIJTENEN, J.P. **Wood variation:** its causes and control. Berlin: Springer-Verlag, 1989. 361 p.

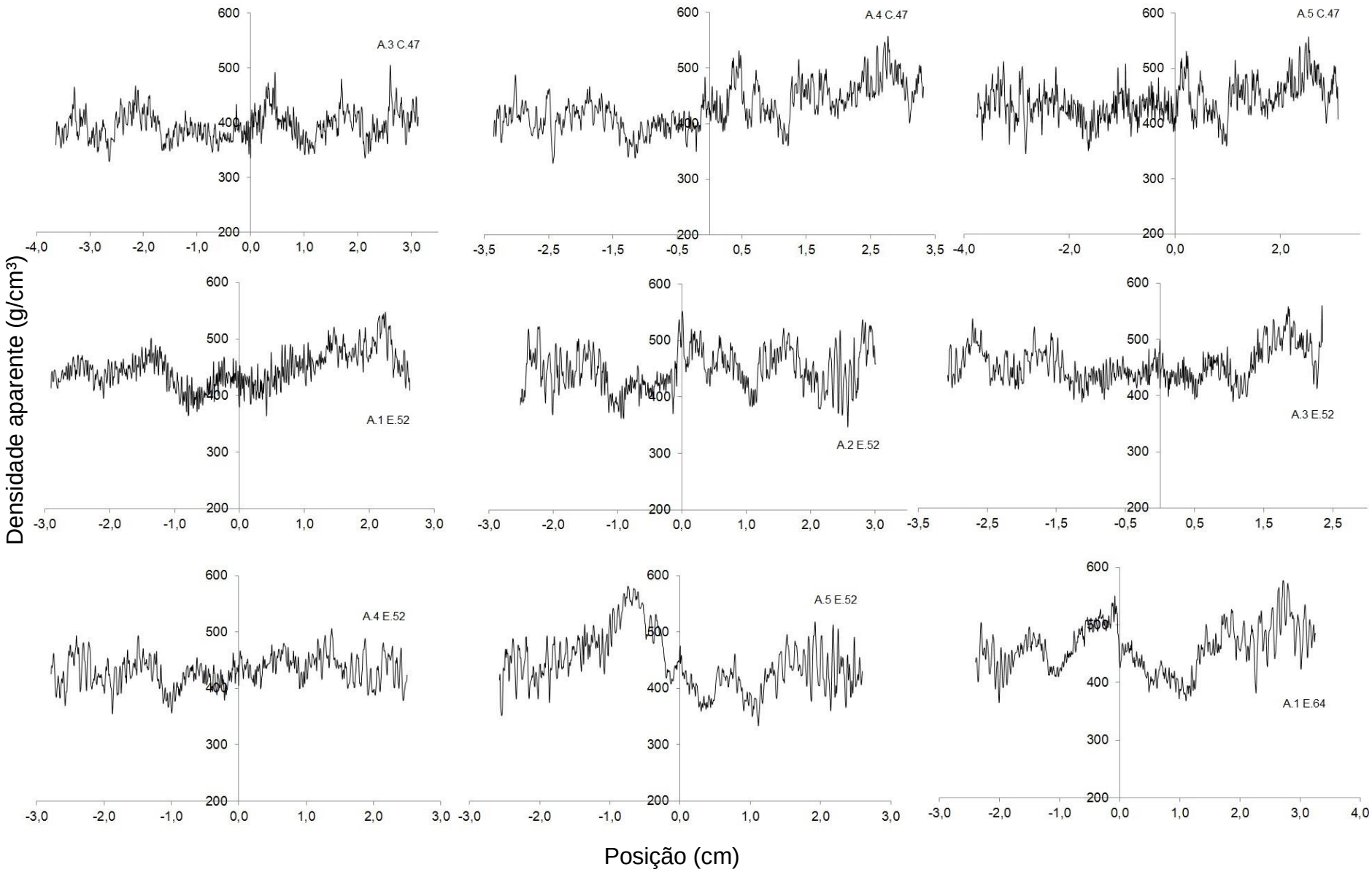
ANEXO

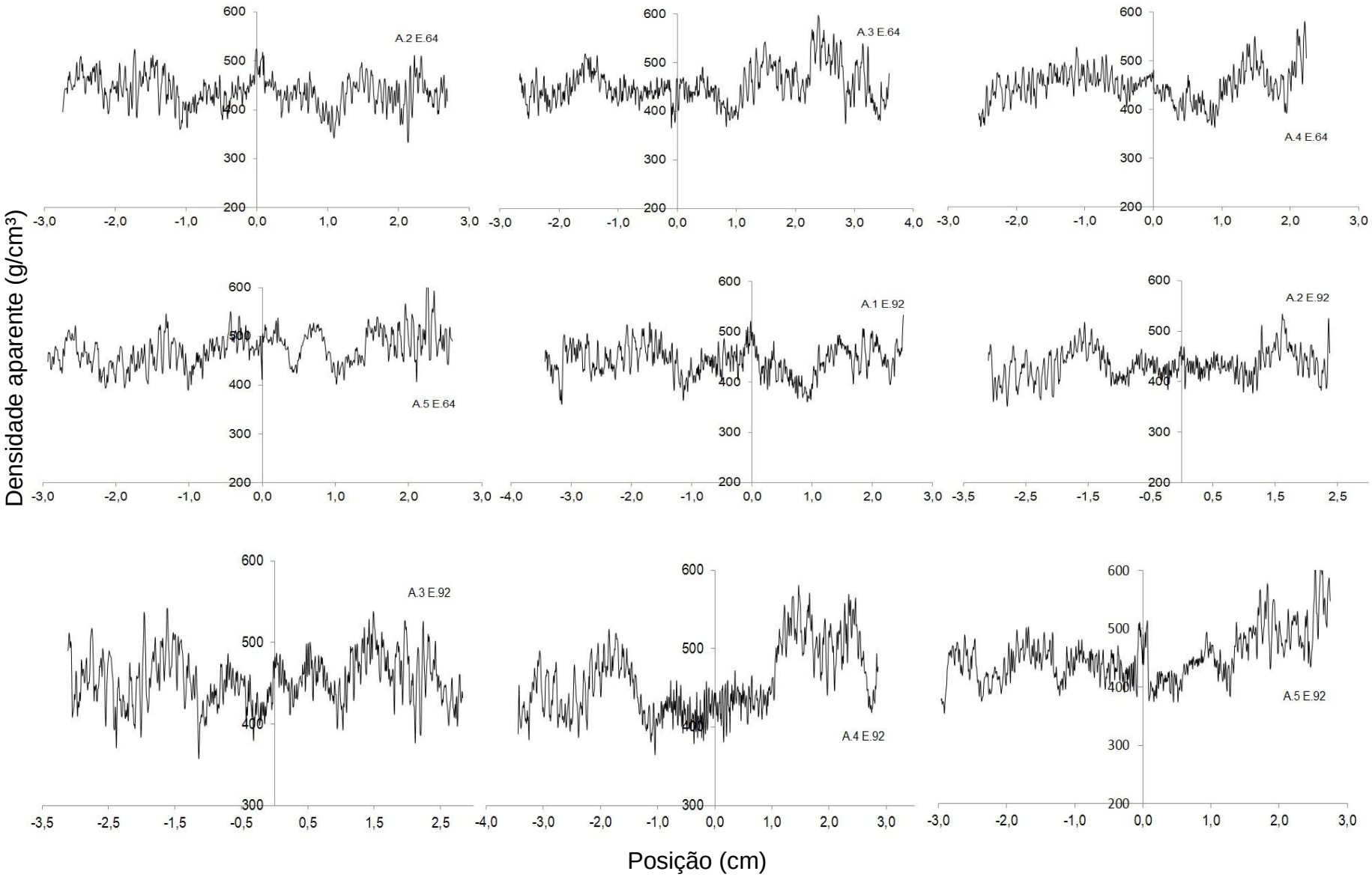
Anexo A - Perfis radiais densitométricos das 70 árvores amostradas

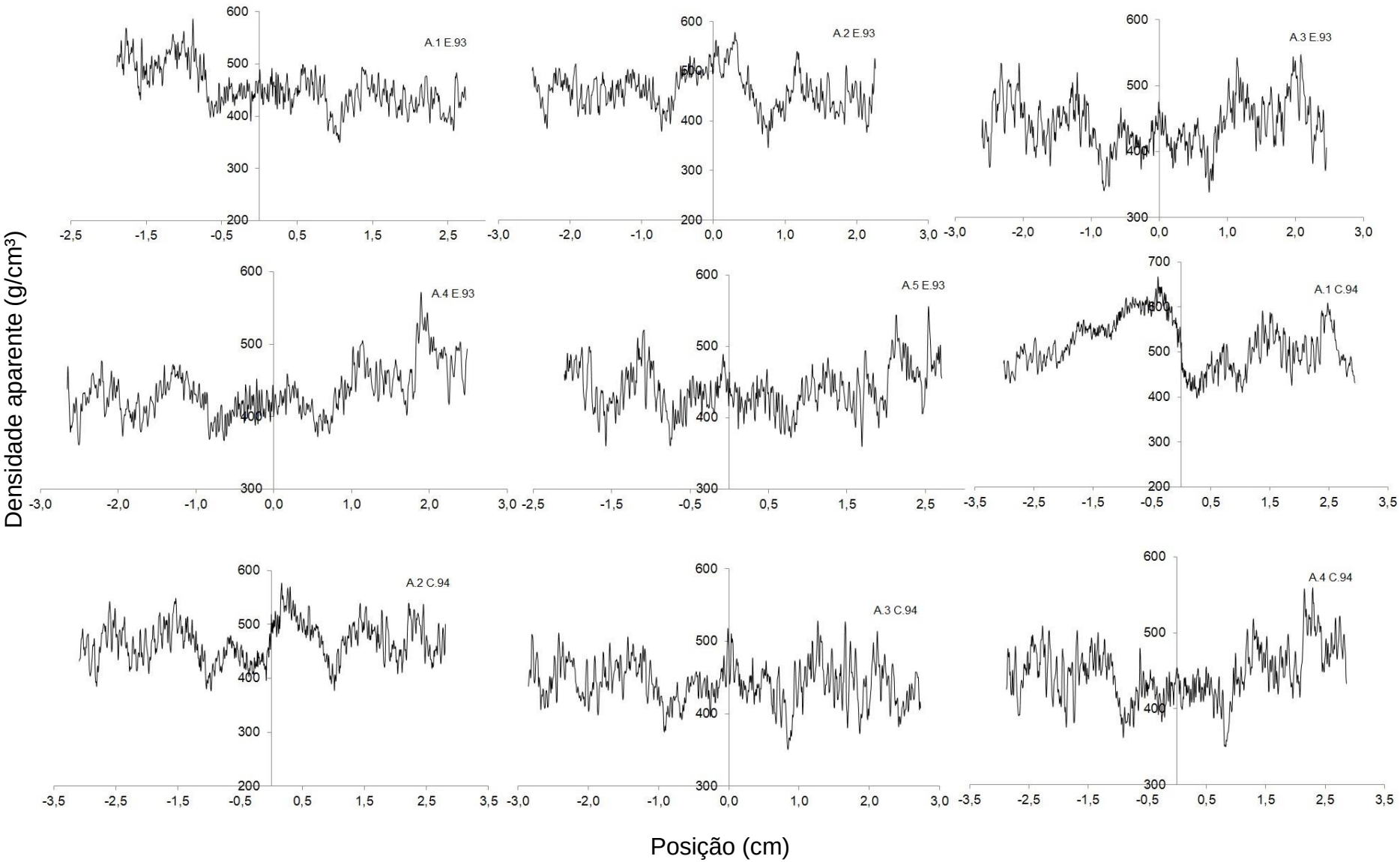


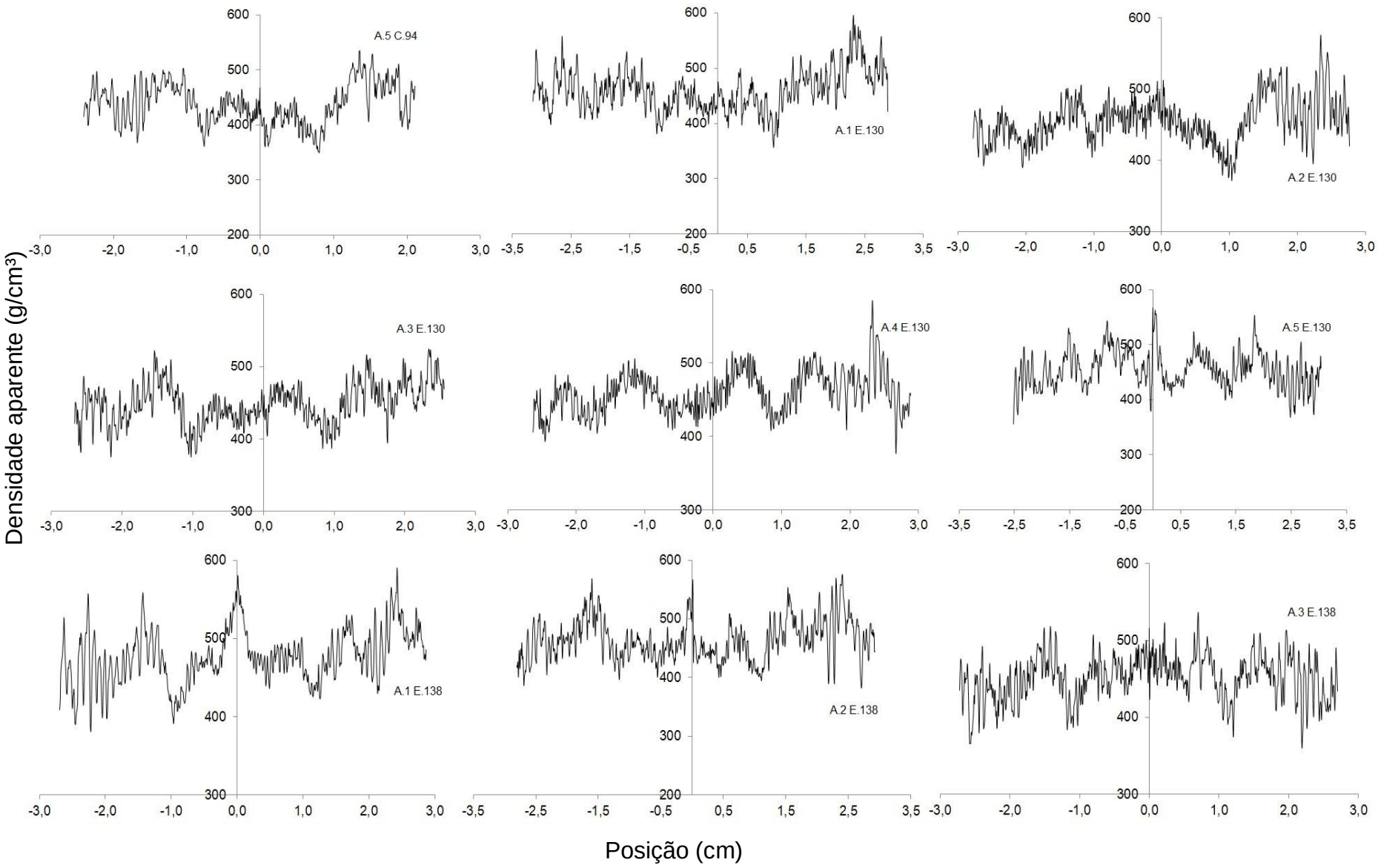

A.5 E.16
A.1 C.17
A.2 C.17
A.3 C.17
A.4 C.17
A.5 C.17
A.1 E.24
A.2 E.24
A.3 E.24
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)

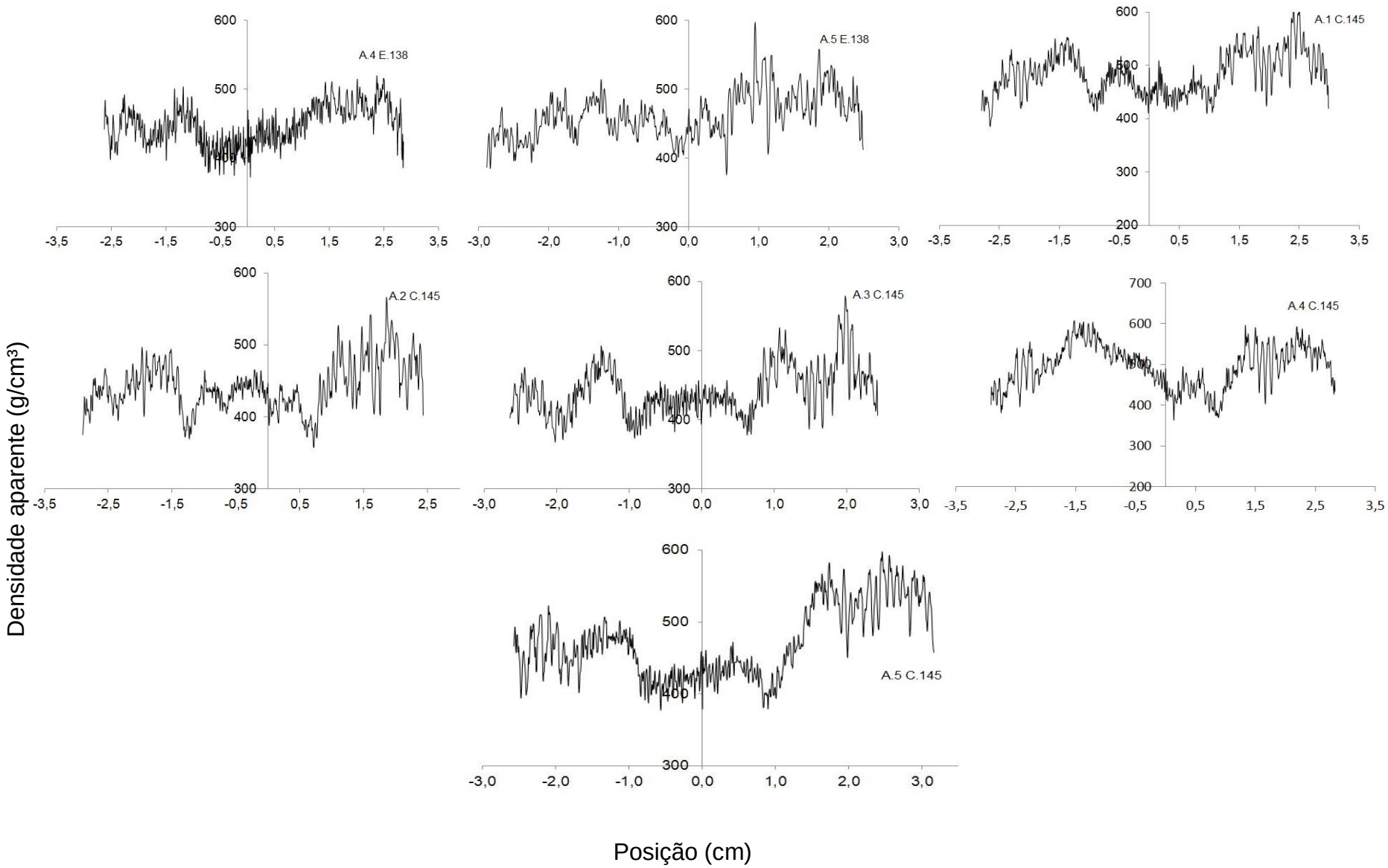

A.4 E.24
A.5 E.24
A.1 E.30
A.2 E.30
A.3 E.30
A.4 E.30
A.5 E.30
A.1 C.47
A.2 C.47
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)


A.3 C.47
A.4 C.47
A.5 C.47
A.1 E.52
A.2 E.52
A.3 E.52
A.4 E.52
A.5 E.52
A.1 E.64
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)


Densidade aparente (g/cm³)
A.2 E.64
A.3 E.64
A.4 E.64
A.5 E.64
A.1 E.92
A.2 E.92
A.3 E.92
A.4 E.92
A.5 E.92
Posição (cm)


A.1 E.93
A.2 E.93
A.3 E.93
A.4 E.93
A.5 E.93
A.1 C.94
A.2 C.94
A.3 C.94
A.4 C.94
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)


A.5 C.94
A.1 E.130
A.2 E.130
A.3 E.130
A.4 E.130
A.5 E.130
A.1 E.138
A.2 E.138
A.3 E.138
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)


A.4 E.138
A.5 E.138
A.1 C.145
A.2 C.145
A.3 C.145
A.4 C.145
A.5 C.145
Densidade aparente (g/cm³)
Posição (cm)