

## Proposta de análise metabolômica com RMN <sup>13</sup>C da madeira do híbrido *Eucalyptus urograndis*

Natália Dias de Souza<sup>1</sup>, Heber dos Santos Abreu<sup>1</sup>, Maria Beatriz de Oliveira Monteiro<sup>1</sup>, Regina Paula Willemen Pereira<sup>1</sup>, Jorge Mitiyo Maeda<sup>2</sup>, Inês Sabioni Resck<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Produtos Florestais/IF/ UFRRJ, [natdias@ufrj.br](mailto:natdias@ufrj.br), [abreu@ufrj.br](mailto:abreu@ufrj.br), [betyka@ufrj.br](mailto:betyka@ufrj.br), [willemen@ufrj.br](mailto:willemen@ufrj.br).

<sup>2</sup>Departamento de Silvicultura/IF/ UFRRJ, [maeda@ufrj.br](mailto:maeda@ufrj.br).

<sup>3</sup>Universidade de Brasília -Instituto de Química. Brasília.

Recebido em 04 de dezembro de 2007

---

### Resumo

O objetivo da pesquisa foi propor um modelo sistemático de identificação de madeiras através de análise metabolômica por Ressonância Magnética Nuclear do <sup>13</sup>C (RMN <sup>13</sup>C) constituindo um banco de dados de <sup>13</sup>C. Neste trabalho foram utilizados os extratos obtidos com ciclohexano de madeiras do híbrido *E. urograndis*. Quatro espécimes com aproximadamente 15 anos de idades foram coletados em diferentes localidades. Os dados de RMN <sup>13</sup>C mostraram que os espectros dos extratos ciclohexano da madeira do cerne (DAP) foram os mais representativos para o estudo do *E. urograndis* devido ao número de absorções verificadas. Com os dados foi possível traçar o perfil espectral comum para o híbrido do *E. urograndis* de cada região anatômica (alburno, zona de transição e cerne).

**Palavras chave:** madeiras, *E. urograndis*, RMN <sup>13</sup>C

---

## Proposal of metabolomic analysis of the hybrid of *Eucalyptus urograndis* wood by <sup>13</sup>C NMR

### Abstract

The objective of this research was to suggest a systematic model of wood identification through metabolomic analysis by <sup>13</sup>C NMR, toward a data bank formation. In this work cyclohexane extracts from wood of *E. urograndis* were used. Four specimens with approximately 15 years old were collected from different regions. The data of <sup>13</sup>C NMR showed that spectra of hexane extractes from heartwood (DAP), were considered the most representative for the study for the *E. urograndis*, due to the largest number of existing spectrum signals. After the data it was possible to identify a common spectral profile for each anatomic region of wood (sapwood, transition zone and heartwood) of *E. urograndis*.

**Key words:** Wood, *E. urograndis*, <sup>13</sup>C NMR.

## Introdução

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

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

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

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

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

Para o desenvolvimento do híbrido foram utilizadas matrizes procedentes de outros continentes (*E. grandis* X

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

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

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

Nos últimos anos têm surgido várias técnicas de análises bioquímicas A metabólica por exemplo é uma dessas que se projeto com grande expectativas, e tem como objetivo isolar e caracterizar os metabólitos de plantas (Benneck, 2004).

Segundo Challis & Hopwood (2003) os estudos dos metabólitos visando à obtenção de produtos efetivos contra diversas doenças e passíveis de comercialização já vem sendo feito desde o início do século XX. Entretanto, a idéia de se analisar todo o conjunto de metabólitos em qualquer nível de complexidade (organismo, órgão, tecido, célula ou mesmo compartimentos celulares) só começou a ganhar destaque nos últimos anos (Weckwerth & Morgenthal, 2005). A metabólica tem como princípio isolar e caracterizar todos os metabólitos de uma dada amostra biológica em condições normais e sob algum tipo de estresse (Rochfort, 2005).

Os mapeamentos metabólicos, principalmente com auxílio da espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear, têm-se demonstrado viável para identificar substâncias presentes em uma determinada espécie vegetal.

A utilização da técnica RMN  $^{13}\text{C}$  pode ser uma nova ferramenta para dirimir dúvidas na identificação de espécies botânicas lenhosas, já que esta permite identificar as estruturas moleculares de várias substâncias que ocorrem em madeiras. Cienfuegos (2000) relata as principais vantagens da RMN: preparação muito simples e fácil obtenção de dados de amostras das mais variadas formas e tamanhos.

A utilização de espectros de extratos brutos é limitada e nunca foi usada como ferramenta para caracterizar a madeira sob este ponto de vista. Entretanto, a imensa quantidade de absorções que representam todos os carbonos moleculares pode significar uma impressão quase digital de uma determinada madeira. A relação do deslocamento químico dos carbonos e as funções orgânicas podem trazer informações mais do que a existência de diferentes substâncias e pode ser um retrato da composição como um todo, cujas características refletem a natureza do lenho e sua origem genética.

O uso da RMN  $^{13}\text{C}$  aplicado rotineiramente para a verificação estrutural de substâncias da madeira, assim como as técnicas espectroscópicas avançadas 1D e 2D, trouxeram avanços significativos para a elucidação estrutural de substâncias orgânicas encontradas em plantas. As técnicas DEPT, APT, HMQC, HMBC e HSQC, por exemplo, fornecem valores de correlação dos deslocamentos químicos dos carbonos e respectivos

hidrogênios das substâncias (Harbone, 1994; Gottlieb & Yoshida, 1989).

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

Este trabalho teve como objetivo usar a técnica RMN  $^{13}\text{C}$  para propor um modelo sistemático de identificação utilizando madeiras oriundas do híbrido *E. urograndis*, por intermédio das variações espectrais apresentadas pelos seus extratos ciclohexânicos, considerando as variáveis sob o ponto de vista fisiológico, ecológico e genético.

## Material e Métodos

### Coleta do material

A coleta de material para análise foi realizada em parceria com a ARACRUZ FLORESTAL. As amostras foram provenientes de árvores do híbrido *E. urograndis*. Foram selecionadas 4 árvores em 2 áreas diferentes, dando preferência às adultas e saudáveis com idade aproximada de 15 anos (Tabela 1). O material de estudo foi obtido em formato de disco com 5 cm de espessura e retirado ao DAP (diâmetro a altura do peito).

**Tabela 1.** Material de *E. urograndis* de duas áreas diferentes.

**Table 1.** Material from *E. urograndis* from two different areas.

| Área | Representação | Indivíduo | Posição do Disco | Altura da Árvore | Material Genético | Material             |
|------|---------------|-----------|------------------|------------------|-------------------|----------------------|
| 157  | I             | 1         | DAP              | 40,20            | AR4               | <i>E.urograndis</i>  |
| 157  | I             | 2         | DAP              | 39,20            | AR4               | <i>E. urograndis</i> |
| 406  | II            | 1         | DAP              | 47,50            | AR4               | <i>E. urograndis</i> |
| 406  | II            | 2         | DAP              | 48,50            | AR4               | <i>E. urograndis</i> |

### Preparação das amostras

Em primeiro, foram identificadas nos discos as regiões do alburno (porção de madeira que, em árvores vivas, contém células vivas e materiais de reserva (exemplo: amido); zona de transição (baixa permeabilidade; cor pálida ou branca; falta de amido, reduzido conteúdo de

líquido e com largura entre 1-3 anéis de crescimento) e cerne (maior conteúdo de extrativos, baixa quantidade de água e células parênquimáticas mortas (Yang, *et al.*, 2004). De cada região retiraram-se amostras. Dessas amostras, foram obtidos cavacos de madeira (3 cm de comprimento e 0,6 mm de espessura). Utilizando-se um moinho de facas do tipo Willey, os cavacos foram

convertidos em serragem.

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

### Obtenção dos extratos

Empregou-se o aparelho de Soxhlet, utilizando-se 16,00g de madeira moída e homogênea de cada parte do disco de madeira. O material foi acondicionado em um cartucho confeccionado com papel filtro e colocado dentro do tubo de extração. O solvente foi colocado em um balão de 1000 mL obedecendo a ordem crescente de polaridade (ciclohexano, acetato de etila e metanol). O tempo de extração para cada solvente foi de 48 h ininterruptas. Logo após esse período, a solução contida no balão foi concentrada em um evaporador rotatório sob vácuo. Os concentrados foram transferidos para um recipiente até a completa evaporação do solvente em temperatura ambiente.

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

Os espectros dos extratos foram obtidos em um espectrômetro VARIAN Mercury plus (300 MHz para <sup>1</sup>H, 75,46 MHz para <sup>13</sup>C), do Centro de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Química da Universidade de Brasília (UnB). Os deslocamentos

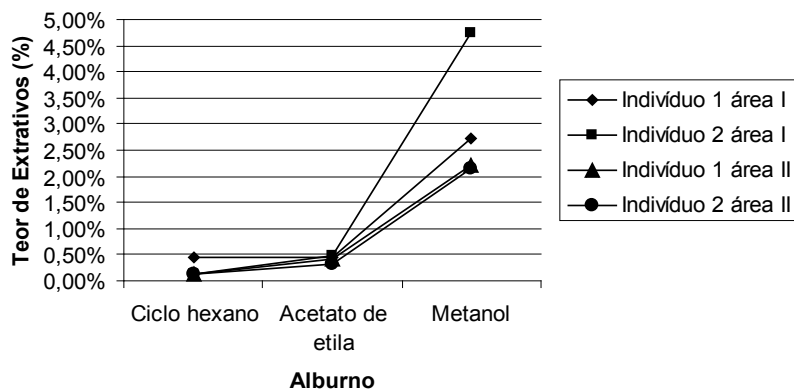
químicos (ppm) tiveram como referência o TMS e sinal do CDCl<sub>3</sub>. O uso da técnica complementar APT (Attached Proton Test) com a seqüência de pulsos auxiliou nas identificações e correlações dos carbonos (Brekmaier & Voelter, 1987).

### Resultados e Discussão

#### Teores de extrativos

Os teores dos extratos ciclohexânicos das madeiras das quatro árvores apresentaram alterações na região do alburno e mantiveram-se quantitativamente constantes nas regiões da zona de transição e cerne. Os teores dos extratos de acetato de etila mantiveram-se quantitativamente constantes nas três regiões da madeira. Quanto aos teores dos extratos metanólicos, alterações foram observadas nas três regiões estudadas. (Figuras 1, 2 e 3).

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



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

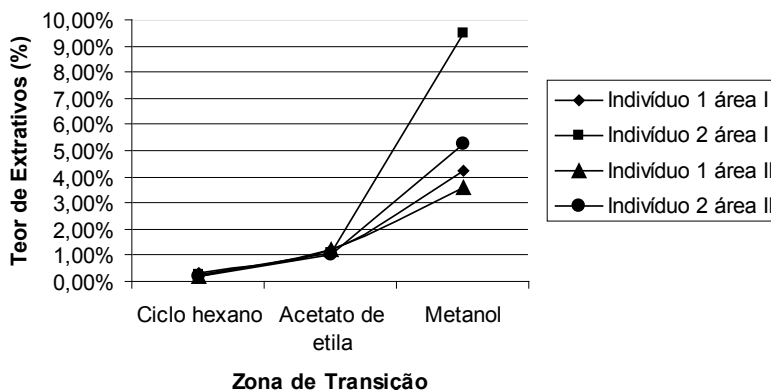
**Figure 1.** Values in percentages of extracts of cyclohexane, ethyl acetate and methanol/dry weight of the wood, from the region of the sapwood of log of the *E. urograndis* from individuals, 1 and 2 from areas I and II, respectively.

metanólicos, o indivíduo 2 da área I destacou-se dos demais, apresentando o maior teor (Figura 1).

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

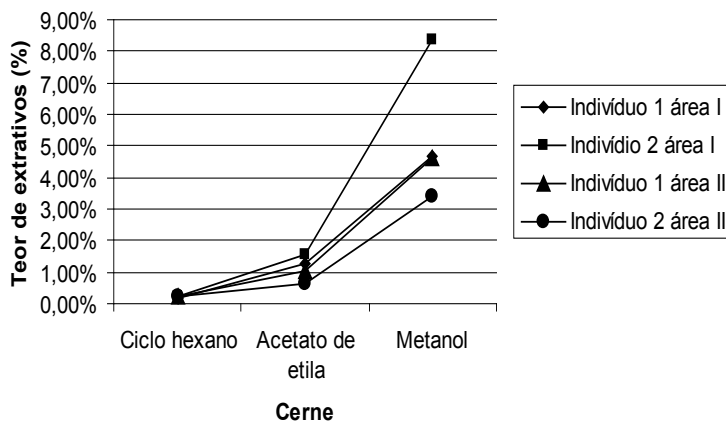
diferentes condições ecológicas (Figura 2).

Os teores dos extratos da madeira do cerne mostraram-se diferenciados quantitativamente com relação aos extratos mais polares, confirmando que os extratos polares neste caso foram mais influenciados pelo aspecto ambiental. Observou-se que o indivíduo 2 da área I apresentou o maior teor (Figura 3).



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

**Figure 2.** Values in percentages of extracts of cyclohexane, ethyl acetate and methanol/dry weight of the wood, the region of the zone of transition of the log of the *E. urograndis* from individuals, 1 and 2 from areas I and II, respectively.



**Figura 3.** Valores em porcentagens dos extratos ciclohexânicos, acetato de etila e metanólico/peso seco da madeira, da região do Cerne do lenho de *E. urograndis* dos indivíduos 1 e 2 das áreas I e II, respectivamente.

**Figure 3.** Values in percentages of dry extracts of cyclohexane, ethyl acetate and methanol/dry weight of the wood, the region of the heartwood of log of the *E. urograndis* from individuals, 1 and 2 from areas I and II, respectively.

Essas variações podem ser explicadas baseadas em três fatores: fisiológicos, ecológicos e genéticos.

Os vegetais também utilizam outras vias metabólicas, produzindo substâncias que geralmente aparentam não ser importantes para sua sobrevivência que são os chamados metabólitos especiais. Tais vias biossintéticas parecem apenas ser ativadas durante estágios particulares de crescimento e desenvolvimento, ou durante períodos de estresse causados, por exemplo, por limitação nutricional ou ataques por microorganismos (Mann, 1987).

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

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

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

A redução na atividade fotossintética, senescência das folhas, déficit hídrico, luz e fatores genéticos afetam os mecanismos fisiológicos, anatômico e químico (Faver *et al.* 1996; Hsiao 1973; Sivakumar & Shaw 1978; Begg & Turner 1976).

Estes dados descritos na literatura leva-nos a reflexão sobre o uso de análise processos fisiológicos acumulativos diferenciados por diferentes condições de crescimento.

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

Neste trabalho foi avaliado o perfil espectral de RMN <sup>13</sup>C dos extratos ciclohexânicos, visto que os demais extratos (acetato de etila e metanólico) apresentaram-se pouco solúveis em solventes Deuterados comuns, dificultando assim a obtenção dos espectros adequados para as respectivas atribuições. Além disso, o extrato

ciclohexânico foi escolhido por outros aspectos: baixa complexidade do extrato, facilidade na obtenção dos espectros, mais solúvel em Clorofórmio Deuterado, (tempo de obtenção dos espectros menor em relação aos outros extratos polares) e menor complexidade espectral.

Os deslocamentos químicos de <sup>13</sup>C foram definidos segundo as regiões dos espectros: alifática (0 a 55 ppm), olefínica e aromática (110 a 155 ppm) e carbonílicas e acílicas (155 a 220 ppm).

As Tabelas 3, 4 e 5 apresentam os valores de deslocamentos químicos que permitem perceber o perfil espectral comum de cada região da madeira (alburno, zona de transição e cerne) para o híbrido *E. urograndis*. Uma relação próxima entre os deslocamentos químicos dos extratos ciclohexânicos foi encontrada, permitindo a obtenção de valores médios, sendo estes escolhidos como os deslocamentos químicos representativos.

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

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da região do alburno mostraram que os indivíduos 1 e 2 das áreas I e II apresentaram similaridade, revelando também que as absorções de <sup>13</sup>C (impressão digital do extrato ciclohexânico) compõe alta concentração na região alifática (C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>), ausência de sinais de carbonos entre 80 ppm a 110 ppm, presença de sinais de carbono olefínico/aromático e presença de sinais carbono carbonila/acila na faixa entre 155 a 220 ppm. As madeiras dos indivíduos estudados mantiveram na maioria as mesmas características espectrais, não ocorrendo alteração quanto à origem genética e ecológica (Tabela 3).

Os espectros dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição mostraram que os indivíduos 1 e 2 das áreas I e II apresentaram similaridade, revelando também que as absorções de <sup>13</sup>C (impressão digital do extrato ciclohexânico) compõe alta concentração na região alifática (C, CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>), alguns sinais de carbonos olefínicos/aromáticos e apenas um sinal de carbono entre 80 ppm a 110 ppm. As madeiras dos indivíduos estudados mantiveram na maioria as mesmas características espectrais, não ocorrendo alteração quanto à origem genética e ecológica (Tabela 4).

Os espectros dos extratos ciclohexânicos provenientes da madeira da região do cerne foram considerados os

**Tabela 3.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do albúrnio para as madeiras de *E. urograndis*.**Table 3.** Chemical shift in ppm of extracts cyclohexane of the sapwood region from wood of *E. urograndis*.

| Albúrnio    |                       |                       |                        |                        |        |        |        |
|-------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|--------|--------|--------|
| Nº do sinal | Indivíduo 1<br>Área I | Indivíduo 2<br>Área I | Indivíduo 1<br>Área II | Indivíduo 2<br>Área II | Média  | Máxima | Mínima |
| 1           | 11,85                 | 11,83                 | 11,83                  | 11,83                  | 11,83  | 11,85  | 11,83  |
| 2           | 11,97                 | 11,95                 | 11,96                  | 11,95                  | 11,96  | 11,97  | 11,95  |
| 3           | 14,10                 | 14,10                 | 14,12                  | 14,10                  | 14,11  | 14,12  | 14,10  |
| 4           | 18,77                 | 18,74                 | 18,75                  | 18,75                  | 18,75  | 18,77  | 18,74  |
| 5           | 19,02                 | 19,00                 | 19,00                  | 19,00                  | 19,00  | 19,02  | 19,00  |
| 6           | 19,81                 | 19,79                 | 19,81                  | 19,79                  | 19,80  | 19,81  | 19,79  |
| 7           | 21,01                 | 21,00                 | 21,00                  | 21,00                  | 21,00  | 21,01  | 21,00  |
| 8           | 22,67                 | 22,67                 | 22,68                  | 22,67                  | 22,68  | 22,68  | 22,67  |
| 9           | 23,05                 | 23,02                 | 23,01                  | 23,02                  | 23,03  | 23,05  | 23,01  |
| 10          | 23,74                 | 23,71                 | 23,70                  | 23,70                  | 23,71  | 23,74  | 23,70  |
| 11          | 24,29                 | 24,27                 | 24,28                  | 24,27                  | 24,28  | 24,29  | 24,27  |
| 12          | 25,61                 | 25,60                 | 25,61                  | 25,60                  | 25,61  | 25,61  | 25,60  |
| 13          | 26,06                 | 26,02                 | 25,99                  | 26,02                  | 26,02  | 26,06  | 25,99  |
| 14          | 27,19                 | 27,17                 | 27,18                  | 27,17                  | 27,18  | 27,19  | 27,17  |
| 15          | 28,23                 | 28,23                 | 28,23                  | 28,23                  | 28,23  | 28,23  | 28,23  |
| 16          | 31,92                 | 31,90                 | 31,91                  | 31,88                  | 31,90  | 31,92  | 31,88  |
| 17          | 33,93                 | 33,90                 | 33,89                  | 33,90                  | 33,91  | 33,93  | 33,89  |
| 18          | 36,14                 | 36,12                 | 36,12                  | 36,12                  | 36,13  | 36,14  | 36,12  |
| 19          | 37,24                 | 37,22                 | 37,21                  | 37,22                  | 37,20  | 37,24  | 37,20  |
| 20          | 42,30                 | 42,29                 | 42,28                  | 42,29                  | 42,29  | 42,30  | 42,29  |
| 21          | 45,82                 | 45,80                 | 45,78                  | 45,79                  | 45,80  | 45,83  | 45,79  |
| 22          | 50,01                 | 49,99                 | 49,97                  | 49,99                  | 49,99  | 50,01  | 49,98  |
| 23          | 56,02                 | 56,01                 | 55,99                  | 56,00                  | 56,01  | 56,02  | 56,00  |
| 24          | 68,14                 | 68,14                 | 68,14                  | 68,14                  | 68,14  | 68,15  | 68,14  |
| 25          | 122,57                | 122,58                | 122,58                 | 122,59                 | 122,58 | 122,59 | 122,58 |
| 26          | 128,78                | 128,78                | 128,80                 | 128,79                 | 128,79 | 128,80 | 128,78 |
| 27          | 130,05                | 130,05                | 130,05                 | 130,05                 | 130,05 | 130,05 | 130,05 |
| 28          | 130,90                | 130,87                | 130,91                 | 130,88                 | 130,89 | 130,91 | 130,87 |
| 29          | 139,66                | 139,68                | 139,67                 | 139,68                 | 139,67 | 139,68 | 139,66 |
| 30          | 140,90                | 140,70                | 140,70                 | 140,72                 | 140,75 | 140,90 | 140,70 |
| 31          | 173,33                | 173,35                | 173,35                 | 173,35                 | 173,35 | 173,35 | 173,33 |

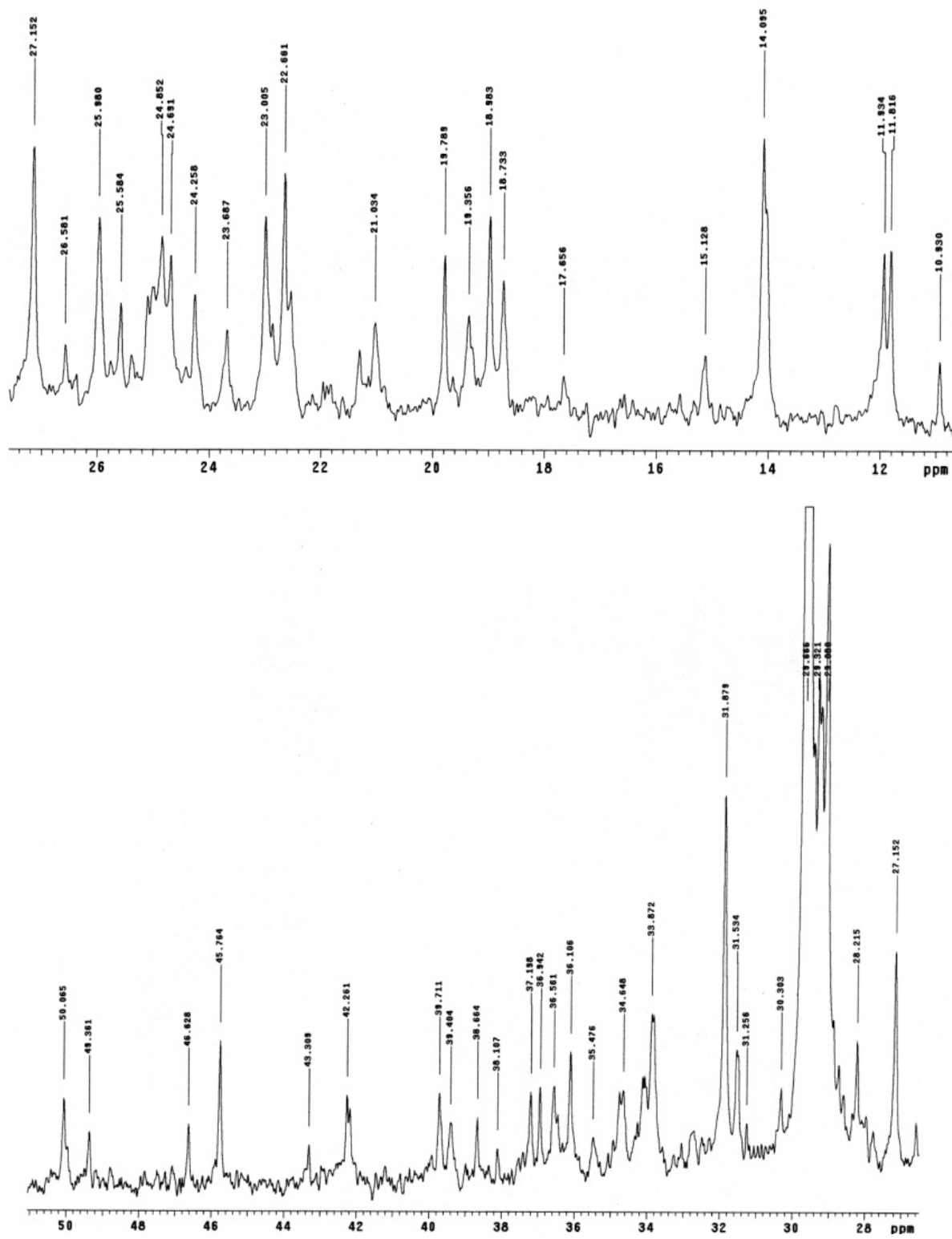
**Tabela 4.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região da zona de transição para as madeiras de *E. urograndis*.**Table 4.** Chemical shift in ppm of cyclohexane extracts from transition zone from wood of *E. urograndis*.

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



**Tabela 5.** Deslocamentos químicos em ppm dos carbonos dos extratos ciclohexânicos da região do cerne para as madeiras de *E. urograndis*.**Table 5.** Chemical shift in ppm of cyclohexane extracts from heartwood of *E. urograndis*.

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



**Figura 4.** Espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (CDC13) do extrato ciclohexânico da madeira do cerne de *E. urograndis*, considerado mais representativo.

**Figure 4.**  $^{13}\text{C}$  NMR spectra of cyclohexane extract from heartwood of *E. urograndis*.

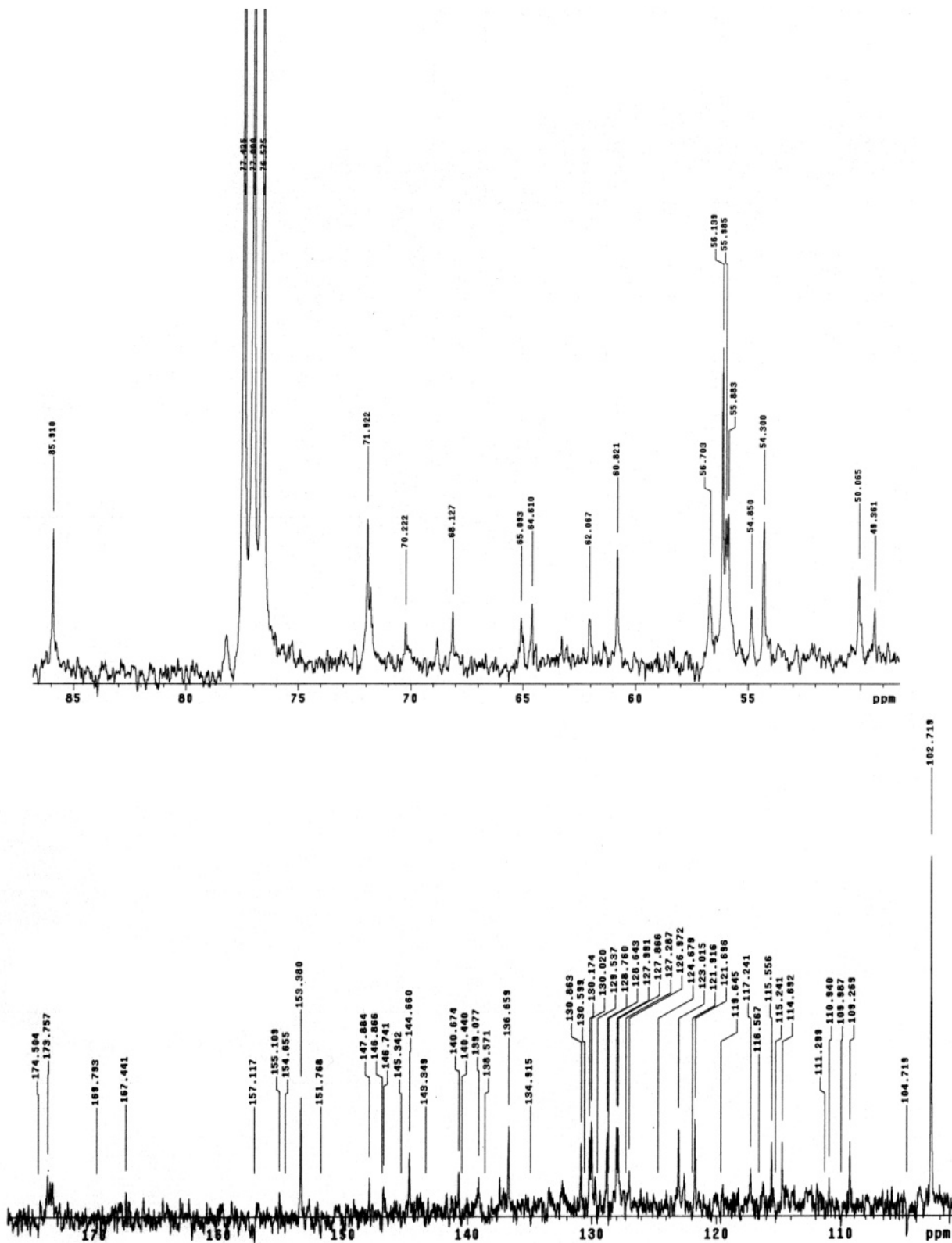


Figura 4. Continuação...  
 Figure 4. Continued...

mais representativos como parâmetro para possível estudo de identificação de *E. urograndis* devido ao número de absorções de  $^{13}\text{C}$  existentes, significando uma maior variedade de valores de frequência de carbonos e podendo, entretanto, ter maior variedade estrutural nos constituintes químicos. Foram encontrados carbonos na região alifática, sinais de carbonos entre 80 ppm a 110 ppm, presença de sinais de carbono olefínico/aromático, e presença de sinais de carbono carbonila/acila na faixa entre 155 a 220 ppm (Tabela 5). (Figura 4).

## Conclusões

Para fins sistemáticos de identificação os teores de extrativos não revelaram nenhum propósito.

Os valores de deslocamentos químicos, assim como o perfil dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  dos extratos ciclohexânicos da madeira do cerne de todos os exemplares, permitiram atribuir a presença de substâncias lipofílicas e compor o banco de dados.

Foi possível caracterizar um perfil espectral comum dos extratos ciclohexânicos das madeiras de cada região (alburno, zona de transição e cerne) para o híbrido *E. urograndis*. Esses perfis espectrais deverão ser considerados de natureza específica para o híbrido e funcionarão como dados importantes nas pesquisas de identificação da madeira por RMN  $^{13}\text{C}$ . Com esse estudo, novos perfis poderão ser traçados para diferentes espécies e contribuir para análise metabolômica aplicada a identificação de madeiras de essências florestais.

## Referências Bibliográficas

- ACOSTA, M. S. Estado de la tecnología en usos no tradicionales de la madera de eucalipto en el Mercosur y otros países. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUTOS SÓLIDOS DE MADEIRA DE ALTA TECNOLOGIA E ENCONTRO SOBRE TECNOLOGIAS APROPRIADAS DE DESDOBRO, SECAGEM E UTILIZAÇÃO DA MADEIRA DE EUCALIPTO, 1., 1998, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Minascentro, 1998. p. 82-105.
- ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: UFV, 2004. 442 p.
- ARACRUZ CELULOSE. **Eucalipto; uma árvore amiga da natureza**. Espírito Santo: Aracruz, 2000. 34 p.
- BENNECK, E. As ômicas: integrando a bioinformação **Biociência e Desenvolvimento**, Uberlândia, V. 1, p. 28-37, 2004.
- BOLAND, D. J. **Forest trees of Austrália**. 4. ed. Sidney: Government Publishing Service: CSIRO, 1992. 24 p.
- BAZAAZ, F.; CHIARIELLO, N.; COLEY, P.; PITELKA, L. Allocating resources to reproduction and defense. **Bioscience**, Uberlândia-MG, V. 37, p. 58-75, 1987.
- BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, Ottawa, V. 161, p. 839-851, 2001.
- BEGG, J.E.; TURNER, N.C. Crop water deficits. **Advances in Agronomy**, Newark, U.S.A, V.28, p.161-217, 1976.
- CHALLIS, G. L.; HOPWOOD, D. A. Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. **National Academy of Science of the United States**, Washington, V. 100, p. 14555-14561, 2003.
- CIENFUEGOS, F.; VAITSMQAN, D. **Análise instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 606 p.
- FAO. **El eucalipto en la repoblación forestal**. 11. ed. Montes, Roma: Colección FAO, 1981. 723 p.
- FAVER, K.L.; GERIK, T.J.; THAXTON, P.M.; EL-ZIK, K. M. Late season water stress in cotton: Leaf gas exchange and assimilation capacity. **Crop Science**, Madison, V.36, p.922-928, 1996.
- GOTTIEB, O. R.; YOSHIDA, M. Natural Products of Woody Plants. In: Rowe, J. W. (Ed.) **Chemicals Extraneous to the lignocellulosic Cell Wall**. Berlin: Springer Verlag, 1989. p. 439-511.
- HADACEK, F. Secondary metabolites as plant traits: Current assessment and future perspectives. **Critical**

- reviews in **Plant Sciences**, V. 21 n. 4, p. 273-322, 2002.
- HARBONE, J. B. **The flavonoids advances in research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1994. 611 p.
- HSIAO, T.C. Plant response to water stress. **Annual Review of Plant Physiology**, V.24, p.519-570, 1973.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford Chemistry series: 33. Clarendon Press Oxford, 1987. 374 p.
- MARTINS, F. G., IKEMORI, Y. K. Produção de híbridos de eucalipto na Aracruz. In: REUNIÃO SOBRE TÉCNICAS PARA PRODUÇÃO DE HÍBRIDOS, 1987, Piracicaba. **Anais...**, Piracicaba, IPEF, 1987.15 p.
- ROCHFORT, S. Metabolomics Reviewed: A New “omics” Platform Technology for Systems Biology and Implications for Natural Products Research. **Journal of Natural Products**, Washington, V. 68, p. 1813-1820, 2005.
- RUY, O. F. **Variação da qualidade da madeira em clones de Eucalyptus urophylla S. T. Blake da Ilha de Flores, Indonésia**. 1998. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Madeiras) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- SALISBURY, F. B.; Ross, C. W.; **Plant Physiology**. 4. ed., Wadsworth Publishing Co.: Belmont, 1991. 559 p.
- SANTOS, S. R. **Influência da Qualidade da Madeira de Híbridos de Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla e do processo Kraft de polpação na Qualidade da Polpa Branqueada**. 2005. 178 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais, com opção em Tecnologia de Produtos Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- SIVAKUMAR, M.V.K., SHAW, R.H. Relative evaluation of water stress indicators for soybeans. **Agronomy Journal**, Madison, V.70, p.619-623, 1978
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed., Porto Alegre: Artemed, 2004. 719 p.
- WECKWERTH, W.;MORGENTHAL,K. Metabolomices from patterns recognition to biological interpretation. **Drug discovery Today**. Targets, V.10, p.1551-1558, 2005.
- YANG, J.; KAMDEM, D.P.; KEAATHLEY, D. E.; HWAN HAN, K. Seasonal changes in gene expression at the sapwood–heartwood transition zone of black locust (*Robinia pseudoacacia*) revealed by cDNA microarray analysis. **Tree Physiology**. Heron Publishing—Victoria, Canada, V. 24, p. 461-474, 2004.