



LUIZ MENDES TAKARADA

**VARIAÇÕES ENTRE PROCEDÊNCIAS DE *Toona ciliata* M.
ROEMER var. *australis* QUANTO A TAXA DE
CRESCIMENTO E ARMAZENAMENTO DE
CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS NA MADEIRA**

LAVRAS-MG

2019

LUIZ MENDES TAKARADA

**VARIAÇÕES ENTRE PROCEDÊNCIAS DE *Toona ciliata* M. ROEMER var. *australis*
QUANTO A TAXA DE CRESCIMENTO E ARMAZENAMENTO DE
CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS NA MADEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração em Ciência e Tecnologia da Madeira, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Sebastião Carlos da Silva Rosado – UFLA

Orientador

Prof. Dr. Paulo Fernando Trugilho - UFLA

Coorientador

LAVRAS-MG

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Takarada, Luiz Mendes.

Variações entre procedências de *Toona ciliata* M. Roemer var. *australis* quanto a taxa de crescimento e armazenamento de carboidratos não estruturais na madeira / Luiz Mendes Takarada. - 2019.

83 p.

Orientador(a): Sebastião Carlos Silva Rosado.

Coorientador(a): Paulo Fernando Trugilho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. Carboidratos Não Estruturais. 2. Amido. 3. Déficit Hídrico. I. Rosado, Sebastião Carlos Silva. II. Trugilho, Paulo Fernando. III. Título.

LUIZ MENDES TAKARADA

**VARIAÇÕES ENTRE PROCEDÊNCIAS DE *Toona ciliata* M. ROEMER var. *australis*
QUANTO A TAXA DE CRESCIMENTO E ARMAZENAMENTO DE
CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS NA MADEIRA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração em Ciência e Tecnologia da Madeira, para obtenção do título de Doutor.

Aprovada em 11 de maio de 2019.

Dr. Paulo Fernando Trugilho- UFLA, DCF.

Dr. Fábio Akira Mori – UFLA, DCF.

Dr. Gilvano Ebling Brondani – UFLA, DCF.

Dra. Kamila Rezende Dázio de Souza - UNIFAL.

Prof. Dr. Sebastião Carlos da Silva Rosado – UFLA

Orientador

Prof. Dr. Paulo Fernando Trugilho

Coorientador

LAVRAS-MG

2019

À minha esposa, filho, mãe, irmãs e sobrinhos

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e ser norte em minha vida.

A Eduarda e ao meu filho Pedro pelo apoio nas horas difíceis e compreensão nos momentos de ausência para finalização de mais essa etapa.

A minha mãe pelo apoio e educação para ser acima de profissional um homem de caráter.

As minhas irmãs, sobrinhos e padrasto pelo carinho e compreensão por todos esses anos longe de vocês.

Ao meu orientador Rosado pelo companheirismo, amizade e por acreditar no trabalho e na minha pessoa.

Ao coordenador da pós-graduação em Ciência & Tecnologia da Madeira Paulo Hein, pela amizade, apoio e ajuda nas tomadas de decisões profissionais e pessoais.

Aos professores e amigos da PGCTM pelas contribuições intelectuais e pelos bons momentos vividos.

Aos meus amigos de Franca e Lavras, pelos momentos de descontração e apoio.

A Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e todo povo brasileiro pelo subsídio financeiro.

A universidade Federal de Lavras pela formação profissional e pessoal.

Ao comitê de orientação para a realização deste trabalho.

A banca examinadora por ceder seu tempo para aprimorar a Ciência e Tecnologia do país.

Muito obrigado!

RESUMO

As árvores possuem capacidades adaptativas que frente aos estresses ambientais modificam suas estruturas cujo fim necessário é a sobrevivência. Os carboidratos não estruturais (CNE's) apresentam-se como ferramenta que baliza, além de um status fitossanitário da árvore, um precursor para a seleção genética de progênies resilientes. Tais carboidratos possuem função fundamental na sobrevivência da planta de reparar o embolismo no xilema, recuperando o duto para o fluxo ascendente de seiva bruta e mantendo ativo o fluxo hidráulico da planta. O objetivo do trabalho foi selecionar progênies superiores de *Toona ciliata* M. Roemer var. *australis* por meio da análise dos conteúdos dos carboidratos não estruturais (amido, sacarose, açúcares redutores, açúcares totais e carboidratos não estruturais totais), gerar um novo protocolo de quantificação e identificar o padrão de variação radial dos CNE's e suas relações com as variáveis ambientais de origem. Foram selecionadas 71 progênies de 16 origens distintas, que após os testes dos parâmetros genéticos via REML/BLUP do software estatístico Selegen foi selecionada uma progênie por origem. Foram realizadas calibrações de modelos para a predição dos carboidratos por meio regressão dos mínimos quadrados parciais para a validação da predição dos carboidratos não estruturais utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) pelo software estatístico Chemoface. Os parâmetros ambientais utilizados no estudo foram a magnitude de seca e temperaturas máximas, mínimas e médias das localidades de cada origem da costa leste australiana. Pelo teste de deviance houve efeito significativo de procedência e progênie, validando que há diferença entre os genótipos avaliados. O coeficiente de variação genética aditiva individual foi de 1,0049 reafirmando a viabilidade na seleção. O menor coeficiente de determinação calculado na validação externa pelo NIRS foi para o amido $R^2 = 0,80$. As relações dentre as magnitudes de seca, temperatura e carboidratos não estruturais foram todas significativas estatisticamente. Observou-se que as temperaturas mínimas e os valores máximos de magnitudes de seca exercem maior influência sob os conteúdos dos CNE's, podendo assim selecionar pelo teste avaliado as progênies 5, 15 e 16 para sítios estressantes.

Palavras chave: Amido. Déficit hídrico. Magnitude de seca. NIRS. *Toona ciliata*.

ABSTRACT

Trees have adaptive capacities that in the face of environmental stresses, modify their structures whose necessary is survival. Non-structural carbohydrates (NSC) are presented as a beaconing tool in addition to a phytosanitary status of the tree, a precursor for the genetic selection of resilient progenies. Such carbohydrates have the fundamental function in the survival of the plant to repair the embolism in the xylem, recovering the duct for the ascending flow of crude sap and keeping active the hydraulic flow of the plant. The objective of the study was to select higher progenies by analyzing the contents of non-structural carbohydrates (starch, sucrose, reducing sugars, total sugars and total non-structural carbohydrates), generate a new quantification protocol and identify the radial variation pattern of CNE's and their relationships with the environmental variables of origin. A total of 71 progenies from 16 different origins were selected, and one progeny per origin was selected after genetic tests using REML / BLUP from the selegen statistical software. Carbohydrate prediction models were calibrated by means of partial least squares regression for the validation of non - structural carbohydrate prediction using near infrared spectroscopy (NIRS) by chemoface statistical software. The environmental parameters used in the study were the magnitude of drought and maximum, minimum and average temperatures of the Australian east coast origin. By deviance test there was a significant effect of provenance and progeny, validating that there is difference between evaluated genotypes. The coefficient of individual additive genetic variation was 1.0049 reaffirming the viability in the selection. The lowest coefficient of determination calculated on the external validation by the NIRS was for the starch $R^2 = 0.80$. The ratios between dryness, temperature and non - structural carbohydrates were all statistically significant. It was observed that the minimum temperatures and the maximum values of drought magnitudes exert a greater influence under the NSC contents, so that the progenies 5, 15 and 16 could be selected for the stress sites.

Keywords: Starch. Water deficit. Drought magnitude. NIRS. *Toona ciliata*.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL	10
1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO GERAL	12
2.1 Objetivos específicos	12
2.2 Hipótese.....	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1 Cedro australiano (<i>Toona ciliata</i> M. Roemer var. <i>australis</i>).....	12
3.2 Anéis anuais de crescimento.....	13
3.3 Dendrocronologia	15
3.4 Memória do estresse transgeracional	17
3.5 Carboidratos não estruturais	18
3.6 Dinâmica dos carbonos não estruturais	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO 2 - ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS PARA SELEÇÃO DE PROGENIES DE CEDRO AUSTRALIANO NO BRASIL	30
1 INTRODUÇÃO	31
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1 Área de estudo	32
2.2 Coleta de dados.....	34
2.3 Análise e modelagem dos dados experimentais.....	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4 CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
CAPÍTULO 3 NEAR INFRARED SPECTROSCOPY: RAPID AND ACCURATE ANALYTICAL TOOL FOR PREDICTION OF NON-STRUCTURAL CARBOHYDRATES IN WOOD	41
ABSTRACT	41
1 INTRODUCTION	42
2 MATERIAL AND METHODS	43
2.1 Biological material.....	43
2.2 Wood specimens	44
2.3 Spectral Acquisition	44
2.4 NSC chemical analysis.....	45
2.5 Multivariate analysis	46
3 RESULTS AND DISCUSSION	47

3.1	NIR spectra and its pre-treatments	47
3.2	Principal Component Analysis	49
CAPÍTULO 4 PADRÃO DE VARIAÇÃO RADIAL DOS CONTEÚDOS DOS CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS NA MADEIRA E SUA RELAÇÃO COM AS VARIÁVEIS AMBIENTAIS DE ORIGEM		
64		
1	INTRODUÇÃO.....	66
2	MATERIAL E MÉTODOS	67
2.1	Material biológico.....	67
2.2	Amostragem	68
2.3	Obtenção dos conteúdos de CNE's	69
2.4	Obtenção das variáveis climáticas nos locais de origem	69
2.4.1	Índice Padronizado de Precipitação (IPP) e Magnitude de Seca (MS)	70
2.5	Estatística.....	71
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.1	Padrão de variação radial.....	71
3.2	Correlação das variáveis ambientais das origens e os conteúdos dos CNE's	73
3.3	Memória do estresse.....	78
4	CONCLUSÕES.....	80
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

O relatório publicado pelo Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC, 2018), relata que as mudanças no clima ao longo do século 21 promoverão modificações significativas nos regimes de chuva e aumento na temperatura global em 1,5°C. Como consequência, projeta-se a elevação dos estresses hídricos e térmicos nas plantas em níveis que podem comprometer a homeostase celular, constituindo, assim, ameaça significativa para a produtividade primária dos ecossistemas. As plantas sob tais condições de estresse podem sofrer alterações no seu metabolismo, em que o estresse térmico modifica, principalmente, as atividades enzimáticas envolvidas na síntese de carbono-amido e sua acumulação (MATHUR et al., 2014), enquanto que o estresse hídrico pode promover a cavitação/embolismo do xilema e elevar o risco de morte das plantas quando estas se deparam com seca mais severa (NARDINI et al., 2011).

Comparações nas taxas de crescimento e produtividade entre populações, quando cultivadas em ambientes com condições climáticas distintas, são necessárias para avaliar a natureza das referidas mudanças de clima na produção de biomassa e na estabilidade dos ecossistemas florestais. Durante muitos anos, o melhoramento genético florestal procurou estabelecer estudos comparativos nos denominados testes de procedências ou de origens (MATYAS, 1994). Historicamente, esses testes remontam aos estudos de Vihnorin conduzidos no ano de 1823 (LANGLET, 1971) e nos resultados obtidos os testes de procedências forneceram importantes contribuições para a seleção de materiais genéticos mais adaptados e produtivos para determinada região de interesse de produção comercial. Em tempos mais atuais os testes de procedência incorporaram novas perspectivas de seleção, em que as condições bioclimáticas históricas, ocorridas na região de origem das sementes, são criteriosamente analisadas para propiciar escolhas de procedências com maior adaptação e melhor desempenho em ambientes similares (BOOTH et al., 1989; MATYAS, 1994; JOVANOVIC et al., 2000).

As seleções assistidas pelas correspondências de clima entre origens e destinos são fundamentadas pelo fato de que as árvores das populações alvo de seleção desenvolveram estratégias evolutivas para regular a sua funcionalidade fisiológica de forma equilibrada e segura. Sob estresses as árvores tendem a utilizar mecanismos de defesa presentes em sua composição para interromper ou diminuir a carga do estresse. Uma das estratégias é a utilização dos carbonos não estruturais, que desempenham papel importante na manutenção e preservação

na vida da árvore. Eles atuam como reservatório de energia para os processos químicos e bioquímicos das plantas, são utilizados para o crescimento e desenvolvimento das plantas, atuam como antioxidantes e são os principais agentes da manutenção da integridade da árvore em períodos de estresse. Um exemplo de manutenção é quando esses carbonos atuam como reparadores no processo de cavitação/embolismo, onde, em especial o amido, por meio da sua despolimerização em açúcares simples, migra para a região periférica do fuste e é responsável pela desobstrução e reparo no tecido embolizado (SALA et al., 2012; YOSHIMURA et al., 2016).

Oliveira (2007) destaca que inúmeros fatores ambientais bióticos e abióticos regulam o crescimento das plantas, desta forma, anéis de crescimento são como arquivos históricos das condições ambientais, uma vez que suas características também variam em função do ambiente. Porém, a decodificação da informação existente nestes anéis apresenta-se de forma complexa devido à multiplicidade destes fatores ambientais e principalmente da interação entre eles. Portanto, conhecer as respostas das plantas às condições ambientais é fundamental para interpretar os padrões temporais de variação dos anéis de crescimento. Dentre as referidas respostas destaca-se a quantidade de carbono não estrutural (CNE) estocado em cada anel de crescimento e utilizado pela planta quando essa retoma o seu desenvolvimento. A produção desses CNE's é feita pela assimilação do carbono produzido na fotossíntese, tendo como fonte o CO_2 e H_2O . Os CNE's são estocados na forma de amido nos tecidos do parênquima, podendo ser facilmente detectado por espectrofotometria e microscopia, principalmente quando o seu estoque está em depleção por estresse térmico (ABREU; ROSADO, 2016). Os estoques de amido funcionam como fonte de açúcares simples e também atuam como dreno quando no período de repouso do vegetal. Na retomada do crescimento o tecido mobiliza as reservas destes carbonos para outros tecidos para garantir a vitalidade da planta (CITADIN, 2006). A discussão do "trade-off" entre crescimento e estocagem desses carbonos ainda é um ponto pouco estudado pela ciência.

Como a divisão celular, expansão dos vegetais e sobrevivência dependem da disponibilidade de carboidratos, estes CNE's tornaram-se objeto de pesquisas para melhor compreendê-los e relacioná-los com as características de crescimento e desenvolvimento no ambiente onde as plantas estão inseridas.

2 OBJETIVO GERAL

O trabalho teve como objetivo selecionar progênies superiores de *Toona ciliata* tendo como referências os parâmetros genéticos e a relação da predição dos conteúdos dos carboidratos não estruturais.

2.1 Objetivos específicos

(i) selecionar da melhor progênie por origem do teste de procedência/progênie com base nos parâmetros genéticos e inventário florestal; (ii) gerar modelo para predição dos conteúdos dos CNE's a partir das assinaturas espectrais da espectroscopia no infravermelho próximo, (iii) identificar o padrão de variação radial dos carboidratos não estruturais e; (iv) relacionar os conteúdos dos carboidratos não estruturais com as normais climatológicas australianas e verificar a possível ativação da memória do estresse.

2.2 Hipótese

As árvores que crescem sob déficit hídrico e instabilidade térmica em suas origens desenvolvem estratégias evolutivas em sua constituição química.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cedro australiano (*Toona ciliata* M. Roemer var. *australis*)

Entre as espécies que vêm sendo plantadas visando à produção de madeira está o Cedro australiano, espécie da família Meliaceae. A espécie possui similaridade botânica com os cedros nativos do gênero *Cedrella* da Mata Atlântica e o Mogno (*Swietenia macrophylla* King) da Floresta Amazônica (LORENZI et al., 2003; PINHEIRO et al., 2003).

O Cedro Australiano é uma espécie de grande porte que pode atingir cerca de 50 metros de altura e 2 metros de diâmetro (PINHEIRO 1986). Apresenta boa adaptabilidade as condições edafoclimáticas brasileiras, principalmente no sul da Bahia e na região sudeste (PINHEIRO; LANI; COUTO, 2003). A espécie é natural no leste da Austrália, desde Ulladulla, ao sul de Sidney, no estado de New South Wales, até Atherton, no norte do estado de Queensland

(GRIJPMAN; RAMALHO, 1969). De acordo com Lampercht (1990) a espécie apresenta bom crescimento em regiões de 500 a 1500 m de altitude, regime pluviométrico de 800 a 1800 mm/ano com estiagem de 2 a 6 meses, temperatura média local de 20 a 26°C e tolera geadas leves e de curta duração. Esta espécie tem em seu habitat natural uma mariposa (*Hypsipyla robusta*) que por meio de sua larva destrói o broto terminal de plantas jovens, promovendo a produção de inúmeros ramos laterais, conseqüentemente gerando árvores com fustes inadequados para a produção de madeira para serraria. No Brasil a espécie *Hypsipyla grandella* causa danos ao cedro e mogno brasileiros, porém ela não ataca o Cedro australiano (MANGIALAVORI et al., 2003), tornando o seu plantio no país viável no que diz respeito ao ataque da mariposa.

Oiano (2000) relata que a espécie encontrou condições favoráveis ao seu desenvolvimento no mercado brasileiro por apresentar rápido crescimento, madeira de boa qualidade e grande aceitação para usos nobres, como movelaria e acabamentos na construção civil (LORENZI et al., 2003; PINHEIRO et al., 2003). Por apresentar características específicas sua madeira tem despertado elevado interesse do mercado, no entanto, algumas informações sobre a espécie ainda não foram esclarecidas, principalmente sobre a capacidade de adaptação às diversas condições ambientais presentes no Brasil. Além da importância na produção de serrados, painéis e na construção civil, a espécie apresenta potencial para estudos dendroclimatológicos por apresentar anéis de crescimento anual distintos (HEINRICH et al., 2009), além de apresentar distinção visível de cerne e alburno (NIGOSKI et al., 2011).

Decorrente da crescente demanda e interesse, trabalhos vêm sendo realizados para melhorar seu cultivo, plantio e manejo. Uma alternativa que vem se mostrando viável na área silvicultural é a produção de mudas clonais por meio de miniestacas provenientes de minicepas (SOUZA; BARROSO; CARNEIRO, 2010), porém a grande maioria das mudas comercializadas ainda é originária de sementes. Uma característica nesta espécie é a capacidade de tolerar o sombreamento, esta particularidade implica na possibilidade de aplicação do cedro em sistemas agrosilvipastoris (BRISTOW; ANNANDALE; BRAGG, 2005).

3.2 Anéis anuais de crescimento

Anel anual de crescimento é a camada de madeira ou casca produzida durante um período de crescimento (MULTILINGUAL, 1964). Os anéis são camadas de células formadas durante uma estação de crescimento no xilema ou floema secundário do tronco de espécies que

apresentam crescimento secundário e podem ser vistos em secção transversal (KAENNEL E SCHWEINGRUBER, 1995; EVERT, 2006). Encinas et al. (2005) definem os anéis de crescimento como sendo o resultado da deposição sucessiva de camadas de tecidos lenhosos no fuste, em razão da atividade periódica do câmbio, afirmam que a atividade do câmbio ano a ano vai acrescentando camadas sobrepostas lateralmente que irão formar o anel de crescimento por meio da estruturação do material lenhoso.

Anéis anuais de crescimento são visíveis a olho nu ou por meio da utilização de lupa ou microscópio e que permitem avaliar diferenças nas propriedades físicas dos elementos do xilema (BROWN, 1974). Os anéis de crescimento são compostos por dois tipos de lenhos: o lenho inicial, que é o lenho produzido durante o período de condições ambientais favoráveis; e o lenho tardio, que é formado durante o período que o crescimento é limitado por algum fator ambiental. Segundo Lauw (2011) as árvores possuem ritmos diferentes ao longo do ciclo de crescimento, sendo que na estação da primavera as plantas reiniciam a sua atividade cambial. O lenho inicial é caracterizado por produzir tecidos de paredes celulares delgadas e lúmens grandes, em que na seção transversal apresentam coloração clara. O lenho tardio, corresponde às células que vão diminuindo sua atividade à medida que o fim do período vegetativo se aproxima, tornando as paredes celulares mais espessas e os lúmens menores, deixando o lenho com aspecto mais escuro e esta alternância de cores é o fator primordial, a olho nu, para a distinção do crescimento relativo de cada ano. Outros fatores também permitem a diferenciação entre os limites dos anéis de crescimento, que podem ser marcados por uma ou mais mudanças estruturais das células, como: células das fibras com paredes espessadas e achatadas no sentido radial; diferenças de diâmetro dos elementos vasos entre o lenho inicial e o lenho tardio; presença de parênquima marginal; elementos de vasos muito estreitos e numerosos, presentes no lenho tardio e ausentes no lenho inicial; e alargamento dos raios (IAWA, 1989).

Mudanças bruscas no clima, como a disponibilidade de água e/ou de outros fatores ambientais podem gerar a produção de mais de um anel de crescimento no mesmo ano. Worbes (1995) relata também a possibilidade de existência de dois anéis de crescimento ao ano, o que pode estar relacionado com duas prováveis estações secas no mesmo ano. Também pode haver a presença dos falsos anéis de crescimento, que são estruturas que se dispõem iguais aos anéis verdadeiros, porém, que não estão presentes em toda a circunferência do tronco da árvore (BURGUER; RICHTER, 1991; RAVEN, 1996).

Nos locais de solos mais secos, as variações em anéis anuais estão correlacionadas mais fortemente à temperatura e à precipitação (TRENARD, 1982). Détienne (1989) estudou os

marcadores anatômicos e a periodicidade dos anéis de crescimento em caules de 30 espécies de 16 famílias da África e da Guiana Francesa e observou que os marcadores dos anéis de crescimento nessas espécies são sempre formados durante o período mais seco da estação. Luchi (2004) comparando *Croton urucurana* em ambiente úmido e seco relatou que os anéis de crescimento só estavam presentes e bem demarcados nos espécimes da área mais seca, o que evidencia que uma estação seca durante o ano é responsável pela indução na formação de um anel de crescimento. O crescimento e desenvolvimento da árvore são influenciados por muitas variáveis inter-relacionadas, tais como disponibilidade de água, temperatura, competição e patógenos. A ciência que estuda as sequências cronológicas dos anéis de crescimento anuais das árvores é designada por dendrocronologia (DICKISON, 2000).

3.3 Dendrocronologia

A dendrocronologia é a ciência cujo objetivo é a identificação dos anéis anuais de crescimento das árvores e a representação de cada anel em um ano concreto no calendário. Além disso, a dendrocronologia representa um método de datação, com elevado nível de exatidão, para com os acontecimentos climáticos a que foram submetidas as árvores de determinada região (Gonçalves, 2007). Para os estudos sobre dendrocronologia é necessário entender os princípios nos quais ela se baseia, (i) uniformidade: confere afirmar que os mesmos processos físicos e biológicos com as condições ambientais influenciaram, da mesma forma, nas variações de crescimento das árvores no tempo atual e do passado; (ii) fator limitante: estabelece que os processos biológicos, crescimento e desenvolvimento, são controlados pela disponibilidade de fatores externos (água, luz, temperatura) e internos (enzimas); (iii) amplitude ecológica: afirma-se que as árvores de uma mesma espécie são mais sensíveis aos fatores ambientais em condições de latitude e altitude nos limites de sua área de ocorrência natural e; (iv) repetição: estabelece que um sinal ou fator ambiental deve ser analisado em mais posições ao longo do tronco (FRITTS, 1976).

A dendrocronologia vem sendo reconhecida nos últimos anos como peça-chave no campo da climatologia. Segundo Hughes (2002) os anéis anuais de crescimento das árvores são arquivos naturais da variabilidade climática. Ainda segundo o autor alguns aspectos fazem da dendrocronologia um ótimo meio de estudo, pois a confiança na datação é elevada, existe a padronização nos sinais nos anéis e a existência de outras bases de dados de cronologia nas mais variadas espécies.

Na ciência dendrocronológica se insere a dendroclimatologia, que estuda a reconstrução climática pela cronologia das características dos anéis anuais de crescimento, baseando-se no princípio da extração dos registros das variáveis climáticas gravadas nesses anéis. Estes estudos vêm sendo usados para determinar ou verificar fatores climáticos que prevalecem em dado período em determinada região (OLIVEIRA et al., 2011).

Nos anéis de crescimento a informação sobre o clima é codificada por características, tais como largura do anel, densidade, estrutura e composição química da madeira formada anualmente (ECKSTEIN, 1999). Além disso, as características do lenho inicial e do lenho tardio podem ser usadas como variáveis adicionais. No caso de espécies decíduas o tamanho elementos dos vasos, que varia de ano para ano, também tem sido usado como parâmetro (ECKSTEIN, 1999). A informação ambiental também pode ser obtida pela análise bioquímica dos anéis de crescimento. Estas informações são levantadas pelos isótopos estáveis de hidrogênio, oxigênio e carbono ou por metais pesados presentes na madeira (ECKSTEIN, 1999).

A busca por sinais climáticos em anéis anuais de crescimento tem sido, provavelmente, o principal motivador de estudos dendrocronológicos nos trópicos e subtropicais. Estudo realizado por Tomazello-Filho et al. (2000) apresentou uma série de características, demonstrando o potencial dendrocronológico para algumas espécies pertencentes à família Meliaceae, tais como: (i) apresentação de eventos fenológicos distintos, como a queda de folhas na estação seca, em condições naturais e de plantio; (ii) madeira com estrutura anatômica característica, pela nitidez e delimitação dos anéis de crescimento; (iii) árvores de densidade média, favorecendo a coleta de amostras de madeira por métodos não destrutivos, (iv) informações sobre a taxa de crescimento, pela marcação do câmbio, uso de bandas dendrométricas e medição da largura dos anéis anuais de crescimento e; (v) extensa bibliografia sobre a taxonomia, dendrologia, botânica, florística, fitossociologia, silvicultura e propriedades da madeira. Lobão (2011) verificou um sinal climático comum nas cronologias de largura dos anéis de crescimento de Cedros em diferentes sítios da região tropical do Acre, indicando que nas condições de crescimento estudadas existe um fator climático específico para a região. Rauber (2010), em uma região subtropical do Brasil, também conseguiu datar, com acurácia, o período de precipitação por meio dos anéis de crescimento em indivíduos de *Cedrela fissilis*.

3.4 Memória do estresse transgeracional

As plantas possuem mecanismos de defesa frente aos estresses ambientais a que são expostas. Um desses mecanismos que a planta induz para sua sobrevivência é denominada memória do estresse transgeracional. O conceito de memória do estresse é a sinalização gerada por estímulos ambientais que provocam o armazenamento da informação daquele estresse na planta e que pode ser recuperada em um futuro caso de estresse (Trewavas, 2003; Thellier & Lüttge, 2012).

Segundo Bruce et al. (2007) e Hilker et al. (2006) após o sinal primário de estresse as plantas difundem o sinal de memória, que normalmente se instalam por meio de mudanças epigenéticas ou por sinais químicos intracelulares, tais como fatores de transcrição do DNA ou na produção de proteínas. Segundo Chinnusamy & Zhu (2009) as modificações epigenéticas são induzidas por alterações na cromatina, que por meio da sinalização bioquímica e hormonal em resposta ao estresse auxiliam na aclimação das plantas aos eventos sucessivos de estresse. Tais mudanças levam o sinal na memória para as próximas gerações (memória transgeracional).

A tolerância aos eventos estressantes das plantas têm sido objeto de estudo de vários pesquisadores. Galle et al. (2011), estudando *Cistus albidus* que foram expostas a déficits hídricos recorrentes como resultados os autores observaram que o conteúdo relativo de água nas folhas foi superior no segundo ciclo de seca já com a segunda geração. Provavelmente, devido ao ajuste osmótico regulado pela planta. Além disso, a eficiência do uso da água obteve melhoras pela exposição prévia à seca. Estes resultados foram atribuídos à manutenção da condutância no déficit hídrico e à menor condução estomática. VillarSalvador et al. (2004) estudando a rustificação das mudas de *Quercus ilex* à seca, concluíram que a tolerância ao estresse aumentou pela redução no potencial da água na folha e na respiração, fenômeno também atribuído pelo ajuste osmótico da planta. Boyko et al. (2010) mostraram que a *Arabidopsis thaliana* exposta ao frio, calor e inundação aumentaram a metilação global do genoma e maior tolerância ao estresse em comparação com a progênie de plantas não expostas a condições estressantes. No entanto, os sinais induzidos pelo estresse podem ser apagados ou diminuídos durante a meiose, reduzindo o estresse da memória de estresse. Por outro lado, plantas clonais produzidas por propagação vegetativa têm aparentemente melhor capacidade de recuperar sinais adquiridos durante eventos de estresse do que plantas não clonais (LATZEL et al., 2016). Considerando a memória de estresse transgeracional entende-se que plantas obtidas de gerações anteriormente expostas ao déficit hídrico tendem a possuir melhor desempenho sob

estresses climáticos quando comparadas à plantas obtidas de materiais que não enfrentaram condições ambientais adversas.

3.5 Carboidratos não estruturais

O carbono é o composto químico mais abundante nas plantas, representando valores de 50 a 80% da matéria seca (MANESS; PERKINS-VEAZIE, 2005) e possui funções de reserva energética e material estrutural (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Este elemento é produto direto da fotossíntese, que nada mais é que a absorção de energia solar pelos pigmentos fotossintéticos (clorofilas) presentes nas folhas. A absorção desta energia pela planta dá início as duas etapas vitais para a produção dos carboidratos: a etapa fotoquímica e a etapa bioquímica. A fase fotoquímica da fotossíntese acontece nas membranas internas do cloroplasto chamada de tilacóides, onde os produtos finais das reações nos tilacóides são o ATP e NADPH, compostos ricos em energia e são usados na síntese de açúcares nas reações de fixação de carbono. A fase bioquímica consiste basicamente na assimilação do CO₂ atmosférico absorvido pelos estômatos que por meio das reações da Rubisco, ATP e NADPH reduzido convertem o CO₂ em compostos orgânicos (RALLO; CUEVAS, 2008). O carbono assimilado pelas plantas resulta na síntese dos carboidratos presentes nas plantas, tais carboidratos são classificados em três grupos distintos: os carboidratos solúveis, de reserva e estruturais; onde os carboidratos de reserva e os solúveis se denominam de carboidratos não estruturais (CNE's).

As árvores apresentam duas fontes de carboidratos não estruturais que sustentam a formação da madeira: o primeiro é o floema, assumindo que o carbono oriundo desta fonte vem em forma de sacarose; e o segundo é o parênquima, onde o carbono é drenado após a clivagem do amido armazenado (DESLAURIERS et al., 2009; GIOVANNELLI et al., 2011). Os carbonos não estruturais possuem múltiplas funções-chave nas plantas, como: manutenção e retomada do crescimento; proteção da integridade fisiológica das árvores (pressão osmótica e estado energético); estresses climáticos (seca, inundação e geada); defesa contra pragas e patógenos; e também como antioxidantes (KÖRNER, 2003; DIETZE et al., 2014).

Os principais carboidratos não estruturais acumulados nas plantas são o amido, os açúcares solúveis redutores e os não-redutores. Entre os redutores, os principais são a glicose e a frutose, enquanto que o principal açúcar não-redutor é a sacarose, que é o açúcar mobilizado nos processos fonte-dreno, que geralmente é transformada em outras substâncias como o amido, ou armazenada na forma livre (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os açúcares redutores e não-redutores

constituem os açúcares solúveis totais, que por definição, são solúveis em água e são encontrados em vários componentes celulares. O amido por ser um carboidrato insolúvel é a reserva de carbono armazenada nas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A assincronia entre assimilação e consumo de carbono é hipotetizada pela acumulação de carboidratos não estruturais (CHAPIN et al., 1990; SALA et al., 2012), que são principalmente armazenados em tronco, ramos e raízes, que serão utilizados no desenvolvimento da planta. Parte do conteúdo dos carbonos não estruturais da árvore também é direcionada para a manutenção do sistema vascular, que devido à embolia dos vasos do xilema, por cavitação, necessita de reparos para restaurar o funcionamento hidráulico do duto.

Um dos fatores fisiológicos que tem sido alvo de muitos estudos é a relação fonte-dreno dos carbonos não estruturais nas árvores, que visa compreender como fatores ambientais limitam o crescimento das plantas em situações de estresse (FISCHER; HOLL, 1992; BARBAROUX; BREDÁ, 2002; DAMESIN; LELARGE, 2003; OBERHUBER et al., 2011; WOODRUFF; MEINZER, 2011; GRUBER et al., 2012; MICHELOT et al., 2012). Árvores crescendo sob condições de estresse ambiental, tendem a limitar seu crescimento e acumular carbonos para sua integridade. Estes resultados foram comprovados sob efeito de alguns estresses, tais como: o estresse térmico (HOCH; KÖRNER 2003; HOCH et al., 2003; FAJARDO et al., 2013), estresses hídricos (BREDÁ et al., 2006; GRUBER et al., 2012) e desfolha (HOCH, 2005; PALACIO et al., 2008). Sob alta temperatura e déficit hídrico, o fluxo do carbono disponível é dirigido para a osmoregulação à custa do crescimento (PANTIN et al., 2013)

Concentrações de carbonos não-estruturais foram medidas em diversos órgãos arbóreos e nestes estudos concluiu-se que existe variação nos índices intra-anuais, onde verificou-se que quanto mais próximo dos locais de crescimento ativo maior é a variação da concentração dos carbonos não estruturais, enquanto que há baixa variação nos tecidos mais internos (UGGLA et al., 2001; BARBAROUX; BREDÁ, 2002; WOODRUFF; MEINZER, 2011; GRUBER et al., 2012; MICHELOT et al., 2012). Normalmente os tecidos mais externos possuem maiores quantidades de carbonos não estruturais do que os tecidos internos (DESLAURIERS et al., 2009; SIMARD et al., 2013). As investigações no local de coleta são importantes para a identificação e melhor percepção sobre os carbonos não estruturais e a sua relação na oferta e procura das árvores para utilização dos mesmos.

Devido às variações climáticas, plantas que possuem alta adaptabilidade na alocação de carbonos não estruturais tendem a sofrer menos com as mudanças (EICHHORN et al., 2005;

BRÉDA et al., 2006). A sobrevivência, o crescimento a longo prazo das árvores e a mortalidade das árvores estão intimamente ligadas à quantidade de carboidratos disponíveis (MCDOWELL et al., 2011). Embora a fotossíntese das plantas e os carbonos não estruturais sejam bem compreendidos, pouco é sabido sobre os processos que regulam a alocação dos carbonos não estruturais no contexto da resiliência das árvores sob influência das mudanças climáticas global que envolvem também o crescimento, armazenamento e outras funções metabólicas (WILEY; HELLIKER, 2012; CARBONE et al., 2013; DIETZE et al., 2014).

3.6 Dinâmica dos carbonos não estruturais

O crescimento das árvores é dependente dos fatores ambientais, tais como luz, temperatura e água. Também há influência direta do espaço físico, edáfico e topográfico. Além de fatores relacionados à competição como, por exemplo, a densidade de plantas (POORTER; BANGERS, 1993; ANDRADE et al., 2007). A maioria das plantas tropicais são sensíveis à altas amplitudes térmicas, ocorrendo danos em baixas temperaturas antes mesmo do ponto de congelamento dos tecidos (KAKANI et al., 2008). As plantas possuem estratégias que permitem o funcionamento vital de seus componentes frente aos estresses ambientais a que estão expostas, como: (i) inibição da fotossíntese; (ii) inibição do metabolismo de proteínas; (iii) crescimento mais lento e; (iv) translocação mais lenta de carboidratos não estruturais (CARMO-SILVA et al., 2008; KAKANI et al., 2008). Além da temperatura o déficit hídrico é um dos fatores mais limitantes da produtividade em geral das plantas.

A água está intimamente relacionada ao crescimento vegetal devido a sua participação nos processos fisiológicos e bioquímicos da planta, além de ser responsável pela turgescência celular e reações hidrolíticas (CAMPOS, 1970). A seca é um fator importante que limita o crescimento das plantas e é esperado que se torne cada vez mais limitante devido às mudanças climáticas. As árvores evoluíram e desenvolveram mecanismos para se adaptarem às secas, como o desenvolvimento de sistemas radiculares mais profundos para absorção da água mais profunda no solo, redução da abertura estomática produção de folhas pequenas e estômatos menores para manter o equilíbrio osmótico e acumulação de substâncias osmoprotetoras (KOZLOWSKI; PALLARDY, 2002). Para as árvores assume-se que a disponibilidade de CO₂ limita a produção da fotossíntese e que o crescimento é limitado pela produção de carbono vindo dessa rota. No entanto, para as árvores que crescem com restrições como a seca, as restrições na formação do tecido vegetal podem ocorrer antes de uma escassez (KÖRNER,

2003). Durante um período de estresse, seja por temperatura ou precipitação, as árvores tendem a diminuir sua transpiração, diminuindo assim a condução estomática e consequente as trocas gasosas. Nas espécies arbóreas é justamente nessa fase onde há o risco da cavitação/embolismo do xilema, fator associado pela má condutância e inconstante disponibilidade de água.

Estudos recentes propuseram teorias para explicar a limitação de carbono sob estresse e qual seria a ordem de prioridade da árvore na alocação destes, onde o armazenamento poderia competir com o crescimento e, assim, fazer do carbono disponível um recurso limitante (MCDOWELL, 2011; SALA et al., 2012; WILEY; HELLIKER, 2012). Segundo Sala et al. (2012) o armazenamento tem prioridade sobre o crescimento, visto que, em última instância, a sobrevivência da planta é mais importante que o ganho em massa. Tal priorização é uma estratégia conservadora e evolutiva, que ocorre com frequência, independentemente do estresse ambiental (WILEY; HELLIKER, 2012). Sob o déficit hídrico existem limitações fisiológicas ao tecido, como turgor crítico de células, que impedem o crescimento da planta independentemente da oferta de carbono disponível. A lacuna sobre o assunto é a identificação da relação dessas intempéries e as respostas dos diferentes órgãos da planta para o equilíbrio no estoque de carbono e sobrevivência das árvores (GALVEZ et al., 2013; HARTMANN et al., 2013).

Uma necessidade para melhor compreender a dinâmica dos teores de carbonos não estruturais era identificar qual a fração de carbono não estrutural disponível para crescimento e qual a fração disponível para mobilização e reparos para o vigor sanitário da planta (MILLARD; GRELET, 2010; ROCHA, 2013). Com essa lacuna Richardson et al. (2013) e Carbone et al. (2013) usando técnicas de rastreamento integradas no tempo, observaram a dinâmica dos estoques de carbono não estrutural e concluíram que os CNE's mais jovens são preferencialmente utilizados para o crescimento e para suprir as demandas metabólicas atuais, enquanto os carbonos não estruturais armazenados, no caso o amido, contribuem para o crescimento dos anéis e a recuperação do crescimento durante a estação latente. Segundo Regier et al. (2009) e Piper (2011) as espécies sensíveis e resistentes à seca apresentam mobilização diferenciada dos carbonos não estruturais em resposta à escassez de água. Nestes estudos, verificou-se que nas plantas sensíveis à seca, as concentrações de carbono não estrutural diminuíram, em contrapartida, nas plantas resistentes houve aumento na concentração de carbono não estrutural, o que indica habilidades diferentes frente à seca dos genótipos adaptados ao estresse da seca.

Nem todo teor de carbono não estrutural presente na árvore está disponível para o crescimento da árvore, uma vez que a árvore necessita destes compostos para a reparação da embolia no xilema. Porém, as concentrações de carbono não estrutural podem informar um status geral fitossanitário e do poder de resiliência da planta. A identificação de traços fisiológicos especificamente afetados pela seca nas árvores pode auxiliar na compreensão dos mecanismos adaptativos e é útil para traçar novas rotas no melhoramento genético e fazer combinações com genes tolerantes ou mais resilientes à seca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU JUNIOR, A. A.; ROSADO, S. C. S.; CAN GENETIC VARIATIONS IN THE DEPLETION PROCESS OF STARCH STOCKS BE DRIVING CONTEMPORARY MICROEVOLUTION IN *Toona ciliata* VAR. *australis*? **Cerne**, v. 22, n. 4, p. 515-526, 2016.
- ANDRADE, C. M.; FINGER, C. A. G.; THOMAS, C.; SCHNEIDER, P. R. Variação do incremento anual ao longo do fuste de *Pinus taeda* L. em diferentes idades e densidades populacionais. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 17, n. 3, p. 239-246, 2007.
- BARBAROUX, C.; BRÉDA, N. 2002. **Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak diffuse-porous beech trees**. *Tree Physiology*. V. 22.
- BOOTH, T. H.; SEARLE, S. D.; BOLAND, D. J. Bioclimatic analysis to assist provenance selection for trials. **New Forest**. v. 3, p. 225-234, 1989.
- BOYKO, A.; BLEVINS, T.; YAO, Y.; GOLUBOV, A.; BILICHAK, A.; ILNYTSKYY, Y.; HOLLANDER, J.; MEINS, JR. F.; KOVALCHUK, I. 2010. Transgenerational adaptation of *Arabidops* is to stress requires DNA methylation and the function of dicer-like proteins. **PlosOne**. 5, e9514.
- BREDA, N.; HUC, R.; GRANIER, A.; DREYER, E. (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. **Ann For Sci** 63:625–644.
- BRISTOW, M.; ANNANDALE, M.; BRAGG, A. **Growing rainforest timber trees: a farm forestry manual for north Queensland**. Barton: Rirdc, 2005. 77 p.
- BROWN, C.L. Secondary growth. In: ZIMMERMANN, M.H.; BROWN, C L. *Trees structure and function*. **New York: Springer-Verlag**, 1974. p.67-123.
- BRUCE, T. J. A.; MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; PICKETT, J. A. Stressfull “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, p. 603-608, 2007.
- BURGUER, L. M.; RITCHER, H. G. **Anatomia da madeira**. São Paulo: Nobel, 1991. 154p.
- CHINNUSAMY, V.; ZHU, J. K. 2009. Epigenetic regulation of stress responses in plants. **Curr Opin Plant Biol**. 12, 133-139.
- CAMPOS, J. C. C. Principais fatores do meio que afetam o crescimento das árvores. **Revista Floresta**, v. 2, n. 3, p. 45-52, 1970.
- CARBONE, M. S.; CZIMCZIK, C.I.; KEENAN, T.F.; MURAKAMI, P.F.; PEDERSON, N.; SCHABERG, P.G.; XU, X.; RICHARDSON, A.D. (2013). Age, allocation and availability of nonstructural carbon in mature red maple trees. **New Phytol** 200: 1145–1155.
- CARMO-SILVA, A.E.; POWERS, S.J.; KEYS, A.J.; ARRABAÇA, M.C. Photorespiration in C4 grasses remains slow under drought conditions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.31, p.925-940, 2008.
- CHAPIN, F.S.; SCHULZE, E.D.; MOONEY, H.A. 1990. **The ecology and economics of storage in plants**. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 423–447.

- CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: FAEPE, 2005. 2º edição. 783p.
- CITADIN, I. 2006. **Ação do frio na mobilização das reservas amiláceas durante o período da dormência e consequências da falta de frio**. Workshop Internacional sobre adaptação de plantas frutíferas de clima temperado em regiões subtropicais. Embrapa documentos.
- DAMESIN, C.; LELARGE, C. (2003) Carbon isotope composition of current-year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. **Plant Cell Environ** 26:207–219.
- DESLAURIERS, A.; GIOVANNELLI, A.; ROSSI, S.; CASTRO, G.; FRAGNELLI, G.; TRAVERSI, M.L. 2009. Intra-annual cambial activity and carbon availability in stem of poplar. **Tree Physiology** 29, 1223–1235.
- DÉTIENNE, P. 1989, Appearance and periodicity of growth rings in some tropical woods. **IAWA Bulletin**, Leiden, v. 10, n. 2, p. 123-132.
- DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. Harcourt Academic Press, San Diego. 533p., 2000.
- DIETZE, M.C.; SALA, A.; CARBONE, M.S.; CZIMCZIK, C.I.; MANTOOTH, J.A.; RICHARDSON, A.D.; VARGAS, R. 32 Nonstructural carbon in woody plants. **Annu. Rev. Plant Biol.**, 65, 667–687, 2014.
- ECKSTEIN, D. **The scope of dendroecology**. In: International Dendroecological Laboratory Week 1999. <http://www.forst.uni-freiburg.de/Waldwachstum/laborato.htm>.
- EICHHORN, J.; ICKE, R.; ISENBERG, A.; PAAR, U.; SCHÖNFELDER, E. (2005) Temporal development of crown condition of beech and oak as a response variable for integrated evaluations. **Eur J For Res** 124:335–347. doi:10.1007/s10342-005-0097-z.
- ENCINAS, J.M.I., SILVA, G.F. & PINTO, J.R.R. 2005. **Idade e crescimento das árvores**. *Comun. Técn. Fl. da UnB* 7(1):1-40.
- EVERT, R. F. **Esau's Plant Anatomy**. Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function and Development. 3 ed, Madison, 601p., 2006.
- FAJARDO, A.; PIPER, F.I.; HOCH, G. (2013). **Similar variation in carbon storage between deciduous and evergreen treeline species across elevational gradients**. *Ann Bot* 112:623–631.
- FISCHER, C.; HOLL, W. (1992) Food reserves of Scots pine (*Pinus sylvestris* L). 2. Seasonal-changes and radial-distribution of carbohydrate and fat reserves in pine wood. **Trees** 6:147–155.
- FRITZ, H. C. 1976. **Tree rings and climate**. Academic Press, London, 567p.
- GALLE, A.; FLOREZ-SARASA, I.; EL AOUOUAD, H.; FLEXAS, J.; 2011. The Mediterranean evergreen *Quercus ilex* and the semideciduous *Cistus albidus* differ in their leaf gas exchange regulation and acclimation to repeated drought and re-watering cycles. **J Exp Bot**. 62, 5207-5216.
- GALVEZ, D.A.; LANDHAUSSER, S. M.; TYREE, M.T. 2013. Low root reserve accumulation during drought may lead to winter mortality in poplar seedlings. **New Phytol.** 198: 139–48.

- GIOVANNELLI, A.; EMILIANI, G.; TRAVERSI, M.L.; DESLAURIERS, A.; ROSSI, S. (2011). Sampling cambial region and mature xylem for nonstructural carbohydrates and starch analyses. **Dendrochronologia** 29:177–182.
- GONÇALVES, G. V. **Dendrochronologia: princípios teóricos, problemas práticos e aplicabilidade**. Universidade de Évora, Portugal. 2007.
- GRIJPMMA, P.; RAMALHO, R. *Toona spp.* **Possibles alternativas para el problema del barrenador *Hypsipyla grandella* de las Meliaceae em América Larina**. Turrialba, San José, v. 19, n. 4, p. 531-547, 1969.
- GRUBER, A.; PIRKEBNER, D.; FLORIAN, C.; OBERHUBER, W. (2012) **No evidence for depletion of carbohydrate pools in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) under drought stress**. *Plant Biol* 14:142–148.
- HARTMANN, H.; ZIEGLER, W.; TRUMBORE, S. 2013. Lethal drought leads to reduction in nonstructural carbohydrates in Norway spruce tree roots but not in the canopy. **Funct. Ecol.** 27:413–27.
- HEINRICH, I.; WEIDNER, K.; HELLE, G.; VOS, H.; LINDESAY, J.; BANKS, J. C. G. Intercadal modulation of the relationship between ENSO, IPO and precipitation: insights from tree rings in Australia. **Climate Dynamics**, Berlin, DE, v. 33, p. 63-73, 2009.
- HILKER, M.; SCHWACHTJE, J.; BAIER, M.; BALAZADEH, S.; AURLE, I. B.; GEISELHARDT, S.; HINCHA, D. K.; KUNZE, R.; ROEBER, R.; RILLIG, M. C.; ROLFF, J.; ROMEIS, T.; SCHMULLING, T.; STEPPUHN, A.; VAN DONGEN, L.; WHITCOMB, S. J.; WURST, S.; ZUTHER, E.; KOPKA, J. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews**, v. 91, p. 1118- 1133, 2016.
- HOCH, G.; KÖRNER, C. 2003. The carbon charging of pines at the climatic treeline: a global comparison. *Oecologia* 135, 10–21.
- HOCH, G.; RICHTER, A.; KÖRNER, C. Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. *Plant Cell Environ.* 2003; 26:1067–1081.
- HOCH, G. (2005) Fruit-bearing branchlets are carbon autonomous in mature broad-leaved temperate forest trees. *Plant Cell Environ* 28:651–659.
- HUGHES, M. K. (2002). Dendrochronology in climatology - the state of the art. **Dendrochronologia**. 20/1-2, pp. 95-116.
- IAWA, C. (1989). **IAWA list of microscopic features for hardwood identifications**. *IAWA Bulletin* , 10 (3), pp. 219-332.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate change 2018: synthesis report**. Geneva, 2018. 151 p
- JOVANOVIĆ, T.; ARNOLD, R.; BOOTH, T. Determining the climatic suitability of *Eucalyptus dunii* for plantations in Australia, China and Central and South America. **New Forest**. v. 19, p. 215-226, 2000.
- KAENNEL, M.; SCHWEINGRUBER, F.H. **Multilingual glossary of dendrochronology: terms and definitions in English, German, French, Spanish, Italian, Portuguese and Russian**. Birmensdorf: Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research; Berne. 1995.

KAKANI, V.G.; SURABHI, G.K.; REDDY, K.R. Photosynthesis and fluorescence responses of C4 plant *Andropogon gerardii* acclimated to temperature and carbon dioxide. **Photosynthetica**, Praga, v.46, p.420-430, 2008.

KÖRNER, C. 2003. Carbon limitation in trees. **J. Ecol.** 91:4–17.

KOZLOWSKI, T.T.; PALLARDY, S.G. (2002) Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. **Bot Rev** 68:270–334.

LAMPRECHT, H. **Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas: possibilidades e métodos de aproveitamento sustentado**. Eschborn: Instituto de Silvicultura da Universidade de Göttingen, 1990. 343 p.

LANGLET, O. Two Hundred years genecology. **International Association for Plant Taxonomy (IAPT)**. v. 20, n. 5/6, p. 653-721, 1971.

LATZEL, V.; RENDINA, A.P.G.; ROSENTHAL, J. 2016. Epigenetic Memory as a Basis for Intelligent Behavior in Clonal Plants. **Front. Plant Sci.** 7, 1354.

LAUW, A. M. R. F. **Estudo de anéis anuais de crescimento de árvores como indicadores climáticos em Portugal**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais) – Universidade técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

LOBÃO, M. S. **Dendrocronologia, fenologia, atividade cambial e qualidade do lenho de árvores de *Cedrela odorata* L., *Cedrela fissilis* Vell. e *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* Hub. Ex Ducke, no estado do Acre, Brasil**. 209 f. Tese (Doutorado em Ciências, Área de concentração em Recursos Florestais, com opção em Tecnologia de Produtos Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.

LORENZI, H. et al. Árvores Exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2003. 385p.

LUCHI, A. E. 2004. Anatomia do lenho de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) de solos com diferentes níveis de umidade. **Revista Brasileira de Botânica** 27: 271-280.

MANESS, N.; PERKINS-VEAZIE, P.; TROMP, J.; WEBSTER, A. D. and WERTHEIM, S. J. (2005). **Soluble and Storage Carbohydrates**. In: *Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production*. Ed. Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands. pp. 361-382.

MANGLIAVORI, A. et al. Dasometria en plantaciones comerciales de toona (*Toona ciliata* var. *australis*) em la Província de Salta. In: **JORNADAS TÉCNICAS FORESTALES Y AMBIENTALES**, 10., 2003, Eldorado. **Anais...** Eldorado: Facultad de Ciências Forestales, 2003. 1 CD-ROM.

MATHUR, S.; AGRAWAL, D.; JAJOO, A. Photosynthesis: Response to high temperature stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 137, n. 1, p. 116–126, 2014.

MATYAS, C. Modeling climate change effects with provenance test data. **Tree Physiology**. v. 14, p. 797-804, 1994.

MCDOWELL, N. G.; BEERLING, D.J.; BRESHEARS, D.D.; FISHER, R.A.; RAFFA, K.F.; STITT, M. (2011) The interdependence of mechanisms underlying climate-driven vegetation mortality. **Trends Ecol Evol** 26:523–532. doi:10.1016/j.tree.2011.06.003.

- MCDOWELL, N. G. 2011. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. **Plant Physiology** 155: 1051–1059.
- MICHELOT, A.; SIMARD, S.; RATHGEBER, C.; DUFRÊNE, E.; DAMESIN, C. (2012) Comparing the intra-annual wood formation of three European species (*Fagus sylvatica*, *Quercus petraea* and *Pinus sylvestris*) as related to leaf phenology and non-structural carbohydrate dynamics. **Tree Physiol** 32:1033–1043.
- MILLARD, P.; GRELET, G. A. 2010. Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world. **Tree Physiology** 30: 1083–1095.
- MULTILINGUAL. Glossary of terms used in wood anatomy. **Mitteilungen der Schweizerischen Anstalt für das Forstliche Versuchswesen**, Zürich, v.40, n.1, 1964. 186p.
- NARDINI, A.; GULLO, M. A. L.; SALLEO, S. Refilling embolized xylem conduits: Is it a matter of phloem unloading? **Plant Science**, Ireland, v. 180, n. 4, p. 604–611, 2011.
- NIGOSKI, S.; TRIANOSKI, R.; MUNIZ, G. I. B.; MATOS, J. L. M.; BATISTA, F. R. R. Anatomia da madeira de *Toona ciliata* características das fibras para produção de papel. **Revista Florestal**. Curitiba, PR, v. 41, n. 4, p. 717 - 728, out./dez. 2011.
- OBERHUBER, W.; SWIDRAK, I.; PIRKEBNER, D.; GRUBER, A. (2011) Temporal dynamics of nonstructural carbohydrates and xylem growth in *Pinus sylvestris* exposed to drought. **Can J For Res** 41:1590–1597.
- OIANO, J. N. **Estudo Fitoquímico da Toona ciliata: Uma contribuição à quimiosistemática do gênero e a ecologia da interação *Hypsipyla-Meliaceae***. 2000. 287f. Tese (Doutorado em Química), São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.
- OLIVEIRA, J. M. 2007. **Anéis de crescimento de *Araucária angustifolia* (Bertol.) O. Kuntze: bases de dendroecologia em ecossistemas subtropicais montanos no Brasil**. Tese de doutorado, UFRS – Brasil.
- OLIVEIRA, B. R. U. et al. Correlações dendroclimatológicas do *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden na região de Rio Claro, RJ. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 3, p. 499-508, 2011.
- PALACIO, S.; HESTER, A.J.; MAESTRO, M.; MILLARD, P. (2008) Browsed *Betula pubescens* trees are not carbon-limited. **Funct Ecol** 22: 808–815.
- PANTIN F.; MONNET F.; JANNAUD D.; COSTA J.M.; RENAUD J.; MULLER B.; SIMONNEAU T.; GENTY B. The dual effect of abscisic acid on stomata. *New Phytol.* 2013;197:65–72.
- PIPER, F.I. 2011. **Drought induces opposite changes in the concentration of non-structural carbohydrates of two evergreen nothofagus species of differential drought resistance**. *Ann. For. Sci.* 68:415–24.
- PINHEIRO, A. L.; LANI, L. L.; COUTO, L. **Cultura do cedro australiano para produção de madeira serrada**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 42p.

- PINHEIRO, A. L. **Estudos de características dendrológicas anatômicas e taxonômicas de *Meliaceae* na Microrregião de Vicosá - Minas Gerais**. 1986. 192 f. Tese (Magister Scientiae) - Curso de Ciência Florestal, Universidade Federal de Vicosá, Vicosá, 1986.
- PINHEIRO, A. L.; LANI, L. L.; COUTO, L. **Cultura do cedro australiano para produção de madeira serrada**. Vicosá, MG: Universidade Federal de Vicosá, 2003. 42p.
- POORTER, L.; BONGERS, F. **Ecology of tropical forests**. Wageningen: Agricultural University, 1993. 223 p.
- RALLO, L.; CUEVAS, J. Fructificación y Producción. In: BARRANCO, D.; FERNÁNDEZESCOBAR, R.; RALLO, L. (Eds.) El cultivo del olivo. 6ª ed. Junta de Andaluzia: **MundiPrensa**, 2008, p.626-662.
- RAUBER, C.R. **Dendroecologia de *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae) em um ecótono de Florestas Subtropicais Montanas no Brasil**. 2010. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.
- RAVEN, P. H.; EVERET, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728p.
- REGIER, N.; STREB, S.; COCOZZA, C.; SCHAUB, M.; CHERUBINI, P. 2009. Drought tolerance of two black poplar (*Populus nigra* L.) clones: contribution of carbohydrates and oxidative stress defence. *Plant Cell Environ.* 32:1724–36.
- RICHARDSON, A. D.; CARBONE, M. S.; KEENAN, T.F.; CZIMCZIK, C.I.; HOLLINGER, D.Y. 2013. Seasonal dynamics and age of stemwood nonstructural carbohydrates in temperate forest trees. *New Phytol.* 197:850–61.
- ROCHA, A. V. 2013. Tracking carbon within the trees. *New Phytologist* 197: 685–686.
- SALA, A.; WOODRUFF, D.R.; MEINZER, F.C. (2012). Carbon dynamics in trees: feast or famine? *Tree Physiol* 32:764–775.
- SIMARD, S.; GIOVANNELLI, A.; TREYDTE, K. 2013. Intra-annual dynamics of nonstructural carbohydrates in the cambium of mature conifer trees reflects radial growth demands. *Tree Physiology* 33: 913–923.
- SOUZA, J. C. A. V.; BARROSO, D. G.; CARNEIRO, J. G. **Cedro australiano (*Toona ciliata*)**. Niterói: Programa Rio Rural, 2010. 12 p. (Manual Técnico, 21).
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.449-484.
- THELLIER, M.; LÜTTGE, U., 2012. Plant memory: a tentative model. *Plant Bio.* 15, 1-12.
- TOMAZELLO FILHO, M.; BOTOSSO, P. C.; LISI, C. S. Potencialidade da família *Meliaceae* para dendrocronologia em regiões tropicais e subtropicais. In: ROIG, F. A. **Dendrocronología en América Latina**. Mendoza: EDIUNC, 2000. p. 381 - 431.
- TRENARD, Y. Making wood speak: an introduction to dendrochronology. **Forestry Abstracts**, Sydney, v.43, n.12, p.729-759, 1982. Traduzido por K.E. Langdon.
- TREWAVAS, A. 2003.Aspects of Plant Intelligence. **Ann. Bot.** 92, 1-20.

- UGGLA, C.; MAGEL, E.; MORITZ, T.; SUNDBERG, B. (2001) Function and dynamics of auxin and carbohydrates during earlywood/latewood transition in Scots pine. *Plant Physiol* 125:2029–2039.
- VILLAR-SALVADOR, P.; PLANELLES, R.; OLIET, J.; PEÑUELAS-RUBIRA, J. L.; JACOBS, D. F.; GONZÁLEZ, M., 2004. Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedlings after drought hardening in the nursery. **Tree Physiol.** 24, 1147 - 1155.
- WILEY, E.; HELLIKER, B. (2012). A reevaluation of carbon storage in trees lends greater support for carbon limitation to growth. **New Phytol** 195: 285–289.
- WOODRUFF, D.R.; MEINZER, F.C. (2011) Water stress, shoot growth and storage of non-structural carbohydrates along a tree height gradient in a tall conifer. **Plant Cell Environ** 34:1920–1930.
- WORBES, M. How to measure growth dynamics in tropical trees – a review. **IAWA Journal**, v. 16, n. 4, p. 337-351, 1995.
- YOSHIMURA, K.; SAIKI, S.T.; YAZAKI, K.; OGASA, M.Y.; SHIRAI, M.; NAKANO, T. (2016). The dynamics of carbon stored in xylem sapwood to drought-induced hydraulic stress in mature trees. *Sci. Rep.*, 6, 24513.

CAPÍTULO 2 - ESTIMATIVAS DOS PARÂMETROS GENÉTICOS PARA SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE CEDRO AUSTRALIANO NO BRASIL

RESUMO

O aumento da pressão social e governamental para a diminuição da exploração das florestas nativas inseriram as florestas plantadas como ferramenta para suprir a demanda social e comercial da produção de madeira e seus subprodutos, como também para a conservação e recobrimento do solo. Com as fronteiras agrícolas cada vez mais escassas e limitadas surge a necessidade de maximizar o ganho em matéria seca por unidade de área nos plantios florestais e para aumentar a diversidade e competitividade dos plantios comerciais o Cedro australiano (*Toona ciliata* M. Romer var. *australis*) apresenta-se como um material com capacidade produtiva e aceitação comercial. Pelo exposto o objetivo do trabalho foi selecionar progênies superiores geneticamente do Cedro australiano de acordo com os testes genéticos via REML/BLUP. Foram avaliadas 71 progênies de 16 origens da costa leste australiana plantadas na cidade de Campo Belo – MG de acordo com o inventário florestal qualitativo e quantitativo e posteriormente testado modelos lineares mistos para predição dos valores genéticos. Verificou-se que houve efeito de progênie e procedência pelo teste de deviance, o que permite a seleção para ganhos no melhoramento genético. A razão entre o coeficiente de variação genética aditiva individual pelo coeficiente de variação residual foi de 1,0049 indicando a viabilidade na seleção. As procedências destaque foram a 15 (Iron Range), 3 (Pascoe River), 5 (Shipton Flat) e 6 (Blue Mountains), podendo assim gerar híbridos superiores em cruzamento assistido envolvendo genitores dessas procedências.

Palavras chave: Melhoramento genético. REML/BLUP. *Toona ciliata*.

ABSTRACT

Increased social and governmental pressure to reduce the exploitation of native forests has included planted forests as a tool to meet the social and commercial demand for timber production and its byproducts, as well as for soil conservation and overlapping. With the increasingly scarce and limited agricultural frontiers, there is a need to maximize the dry matter gain per unit area in forest plantations and to increase the diversity and competitiveness of commercial plantations. Australian cedar (*Toona ciliata* M. Romer var. *australis*) presents itself as a material with productive capacity and commercial acceptance. Therefore, the objective of this work was to select genetically superior progenies of the Australian cedar according to the genetic REML / BLUP tests. Seventy - one progenies from 16 Australian east coast origins planted in the city of Campo Belo - MG according to qualitative and quantitative forest inventory were evaluated and mixed linear models were then tested for prediction of genetic values. It was verified that there was effect of progeny and provenance by the deviance test, which allows selection for gains in genetic improvement. The ratio between the coefficient of individual additive genetic variation by the coefficient of residual variation was 1.0049 indicating the viability in the selection. The provenances were 15 (Iron Range), 3 (Pascoe River), 5 (Shipton Flat) and 6 (Blue Mountains), being able to generate superior hybrids in assisted crossing involving parents of those origins.

Keywords: Genetical enhancement. REML/BLUP. *Toona ciliata*.

1 INTRODUÇÃO

Com as restrições governamentais sobre a exploração das florestas nativas, as florestas plantadas inserem-se como principal fonte de matéria prima para a suprir a necessidade da sociedade atual por madeira e seus derivados. A ciência e tecnologia florestal buscam, para suprir tal demanda, espécies que apresentem rápido crescimento e qualidade mínima exigida da madeira para determinado fim. Para maximizar o incremento por unidade de área torna-se necessário o aperfeiçoamento de técnicas que irão contribuir para o aumento quantitativo e qualitativo das florestas, tornando-as sustentáveis nos sistemas de produção. O melhoramento genético auxilia como ferramenta para direcionar pesquisadores e empresas a otimizarem receitas, operacionalizarem e instalarem ciclos curtos de rotação, buscando florestas comerciais com maior produção e produtividade.

Segundo Menck (1986) os testes de progênies são importantes nos programas de melhoramento, pois neles são determinados os valores reprodutivos dos indivíduos selecionados e estimados os parâmetros genéticos da população para cruzamentos. Sampaio et al. (2000) concluíram que a combinação de testes de procedência e progênies é uma estratégia eficiente para a seleção de genótipos superiores, pois a estimativa da herdabilidade de características desejadas e os componentes de variância propiciam a escolha do método mais adequado de seleção. No melhoramento de espécies perenes, o uso de modelos mistos do tipo REML/BLUP para avaliação genética são os mais indicados pois propiciam as melhores estimativas dos valores genéticos aditivos e genotípico de indivíduos com potencial para seleção intrapopulacional e interpopulacional (Resende, 2000).

No Brasil o cultivo da *Toona ciliata* (Cedro australiano) vem sendo amplamente difundido devido aos resultados obtidos em termos de crescimento vegetativo e adaptação às condições de solo e clima das diferentes regiões brasileiras. Além disso, os fustes apresentam formas retilíneas, o que possibilita altos rendimentos na operação de desdobro de toras. Isso se deve ao seu crescimento monopodial, sem perda da dominância apical em decorrência da resistência natural contra os ataques da broca dos cedros. A produtividade média do cedro australiano no Brasil está em torno de 15 m³/ha/ano (Pinheiro et al., 2003). Pouco comparado aos gêneros *Eucalyptus* e *Corymbia* que apresentaram em 2017, produtividade de até 35,7 m³/ha/ano (IBÁ, 2017). Estudos genéticos para o melhoramento dos eucaliptos foram incessantemente realizados, o que desencadeou o grande aumento produtivo da espécie. Mesmo não esperando, a priori, tamanho aumento em produtividade, estima-se que os estudos preliminares de melhoramento genético do cedro australiano possam auxiliar na seleção de

genótipos superiores capazes de aliar qualidade e quantidade de madeira para ampliar as espécies florestais comerciais competitivas e, posteriormente, realizar cruzamentos controlados em hibridações inter ou intraespecíficas para aplicações nas etapas dos programas em que se pretende aprofundar no processo de seleção de forma estratégica para consolidar as gerações avançadas de melhoramento.

Os estudos de cedro australiano no Brasil ainda são escassos e com enfoques principalmente na qualidade da madeira (TRIANOSKY et al., 2014) crescimento e desenvolvimento de cepas (SOUZA et al., 2014), porém muito pouco é sabido sobre o melhoramento genético ou seleção de indivíduos superiores, pois os programas ainda não passaram da primeira fase de avaliação. O objetivo do trabalho foi realizar a seleção de progênies superiores geneticamente via teste REML/BLUP para o melhoramento genético do cedro australiano introduzido no Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O teste de progênies/procedências está localizado na cidade de Campo Belo – MG (latitude 20°53'50" e longitude 45°16'38") com altitude medida de 833 m, cujo clima é classificado como Cwa: subtropical, chuvoso e mesotérmico (KÖPPEN, 1948), a precipitação média anual é de 1406 mm e temperatura média anual de 20,5°C.

No teste foram introduzidas 71 progênies de polinização livre provenientes de 16 procedências de árvores matrizes devidamente colhidas na origem, nos estados Australianos de Queensland (QLD) e New South Wales (NSW). O teste piloto possui 10 anos e o delineamento experimental é de blocos casualizados, com três blocos e 16 plantas por parcela, implantado em espaçamento de plantio 3x3 metros. A identificação das localidades de coleta das sementes e respectivas latitude, longitude, altitude, altitude, precipitação e número de progênies estão descritos na Tabela 1, enquanto que a nomenclatura dada a cada progênie e a respectiva origem são descritas na Tabela 2.

Tabela 1. Descrição das procedências/progênes no teste experimental.

Procedência	Nº prog	Alt (m)	Prec (mm)	Latitude	Longitude
1	8	700	1279	171900 S	1453000 L
2	3	250	854	242800 S	1511300 L
3	6	40	2091	123300 S	1430400 L
4	7	280	1046	321100 S	1513009 L
5	5	300	1873	155000 S	1451400 L
6	2	220	1370	133300 S	1430800 L
7	8	400	1201	343800 S	1503600 L
8	4	180	1262	341716 S	1505611 L
9	3	130	1031	343100 S	1504400 L
10	2	360	903	281300 S	1523200 L
11	1	750	1835	301496 S	1524026 L
12	6	180	790	282600 S	1524700 L
13	4	1100	1187	171800 S	1452600 L
14	5	440	1251	263800 S	1523800 L
15	6	40	2091	124400 S	1431700 L
16	1	720	1549	210900 S	1482900 L

NºProg: Número de progênes; Alt: Altitude/ Prec.: Precipitação; S: Sul; L: Leste.

Tabela 2. Nomenclatura das procedências no teste experimental de *Toona ciliata*.

Procedência	Localização	Progênes
1	ATHERTON	1, 2, 4, 5, 56, 59, 82 e 85
2	UBOBO	8, 9 e 50
3	PASCOE RIVER	11, 12, 13, 47, 98 e 99
4	ALLYN RIVER	14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20
5	SHIPTON FLAT	21, 22, 23, 24 e 100
6	BLUE MOUNTAINS	31 e 70
7	KANGAROO V.	33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 e 90
8	COLEDALLE W.	32, 41, 42 e 43
9	MARSHAL MOUNTAIN	45, 46 e 77
10	TEVIOT BROOK	25 e 48
11	DORRIGO	66
12	DAIRY FLAT	44, 61, 62, 63, 64 e 65
13	BALDY MOUNTAIN	67, 68, 69 e 87
14	KENILWORTH S.F.	72, 73, 75, 76 e 40
15	IRON RANGE	78, 79, 80, 88, 89 e 92
16	EUNGELLA	54

2.2 Coleta de dados

Foram medidos todos os diâmetros à altura do peito (DAP) e, qualitativamente, foram feitas observações relativas ao fuste da árvore, sendo considerados e subdivididos em: fustes tortos, quebrados, com cancro fisiológico e rachados. Como o objetivo é a seleção de indivíduos superiores, foram excluídos do teste os indivíduos que continham as características indesejáveis no fuste, restando 2511 indivíduos para seleção.

2.3 Análise e modelagem dos dados experimentais

Foram utilizados os métodos do melhor preditor linear não viesado (*Best Linear Unbiased Prediction – BLUP*) e o da máxima verossimilhança restrita (*Restricted Maximum Likelihood – REML*), utilizando o programa estatístico SELEGEN REML/BLUP (RESENDE, 2002) para estimar os parâmetros genéticos e genotípicos que serviram de base para a seleção ordenamento das progênies.

A seleção foi conduzida tendo o DAP como base devido a medida ser precisa e obtida de forma direta, não ocorrendo assim desvios ou imprecisões na coleta. Além disso, o DAP apresenta correlações altas e positivas em relação ao volume do fuste.

Foi utilizado o modelo 5 – Blocos completos, várias progênies meios-irmãos em um local - (Equação 1) para predições genéticas, onde y é o vetor de dados, r é o vetor dos efeitos da repetição (assumidos como fixos) somados a média geral, a é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios), p é o vetor dos efeitos de parcela (assumidos como aleatórios), s é o vetor dos efeitos da procedência (aleatórios) e e é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos (RESENDE, 2007).

$$y = Xr + Za + Wp + Ts + e \quad (1)$$

A sequência de dados para análise no Modelos 5 no programa computacional SELEGEN REML/BLUP (RESENDE, 2002) é:

Indivíduo, progênie, bloco, parcela, procedência, árvore e DAP.

Foram feitas as análises dos componentes de variância (REML individual) e dos componentes de média (BLUP Individual), onde foram considerados o efeito genético aditivo predito (\hat{a}) e o valor genético aditivo predito ($\mu + a$) para determinar os melhores indivíduos para seleção baseada no DAP. O critério de seleção das progênes por procedência foi dado pelos parâmetros genéticos gerados acima e pelo agrupamento dos melhores indivíduos na classificação.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 encontra-se o resultado da análise de deviance para o diâmetro a altura do peito das árvores. A razão da verossimilhança (LRT) foi responsável pela avaliação da significância do teste. Pelos resultados verificou-se que há efeito de progênie e de procedência no teste ($P < 0,01$ e $0,05$), evidenciando a amplitude genética dos materiais e a capacidade de realizar cruzamentos e seleção de indivíduos para o melhoramento genético no referido experimento. Santos (2011) e Rosado (2015) avaliaram o mesmo teste em diferentes idades e obtiveram resultados semelhantes na análise de deviance, assumindo assim, portanto, que há efeito de progênie e procedência no teste, o que agrega valor genético no teste para seleção e posterior cruzamento de indivíduos.

Tabela 3. Análise de deviance (ANADEV) para o diâmetro a altura do peito na avaliação de progênes de meio-irmãos de *Toona ciliata*.

Efeito	Deviance	LRT Qui-quadrado
Progênie	12041,54 ⁺	60,15**
Procedência	11985,72 ⁺	4,33*
Modelo completo	11981,39	

Qui-quadrado tabelado: 3,84 e 6,63 para níveis de significância de 5%^(*) e 1%^(**), respectivamente; e ⁽⁺⁾ deviance do modelo ajustado sem os referidos efeitos.

A estimativa dos parâmetros genéticos obtidos na avaliação do teste de procedências/progênes está descrita na Tabela 4.

Tabela 4. Estimativa dos parâmetros genéticos para a característica de diâmetro a altura do peito nas progênies obtidas na avaliação de meio-irmãos de *Toona ciliata*.

Parâmetros	Valores
V_a	3,452898
V_{parc}	1,292448
V_{proc}	6,157761
V_e	33,268299
V_f	44,141406
$H^2_{\hat{a}}$	0,07817 \pm 0,0311
C^2_{parc}	0,2926
C^2_{proc}	0,139406
CV_{gi} (%)	12,264567
CV_{gp} (%)	6,032284
CV_e (%)	12,204691
CV_R	1,0049
Média Geral	15,402107

V_a : Variância genética aditiva; V_{parc} : Variância ambiental entre parcelas; V_{proc} : variância genética entre procedências; V_e : Variância residual; V_f : variância fenotípica individual; $H^2_{\hat{a}}$: herdabilidade individual no sentido restrito; C^2_{parc} : coeficiente de determinação nos efeitos de parcela; C^2_{proc} : coeficiente de determinação dos efeitos das progênies; CV_{gi} (%): coeficiente de variação genética aditiva individual; CV_{gp} (%): coeficiente de variação genotípica entre progênies; CV_e (%): coeficiente de variação residual; e CV_R : coeficiente da variação genética aditiva individual residual.

Verificou-se que a variância genética foi maior que a variância ambiental, fator esperado devido à diversidade na localização das sementes coletadas na Austrália e também pelo teste experimental estar no mesmo local, sujeito assim às mesmas temperaturas e precipitações. O coeficiente de variação genética aditiva individual foi duas vezes maior que o coeficiente de variação genotípica entre progênies, evidenciando assim a seleção individual dentro das progênies. Inversamente houve um maior coeficiente de determinação nos efeitos de parcela do que nos efeitos de progênie, esse fato pode estar associado a vizinhança das parcelas nos blocos, resultado de clareiras pela mortalidade de indivíduos, adaptação insuficiente de progênies no sítio e indivíduos geneticamente inferiores proporcionam tais situações. Esses referidos

coeficientes são parâmetros indispensáveis na genética quantitativa, pois permitem quantificar a magnitude da variabilidade das populações (RESENDE, 2002).

Pelo $CV_R (CV_{gi}/CV_e)$ que apresentou valor de 1,0049 e a magnitude dos coeficientes de variação, indica-se que há viabilidade de seleção para o delineamento de eficientes estratégias para obter ganhos genéticos (RESENDE, 2002). A herdabilidade individual no sentido restrito não apresentou magnitude expressiva de ganho em DAP ($0,07\text{cm} \pm 0,03\text{ cm}$).

A partir dos valores genéticos e pelas formas dos fustes em campo foi selecionada uma progênie por procedência, gerando assim a Tabela 5, onde encontra-se o valor da variância residual e a herdabilidade do genótipo das progênies escolhidas para a segunda fase do melhoramento do cedro australiano.

Tabela 5. Seleção das Origens e componentes de variância por genótipo (REML individual).

Origem	Progênie Selecionada	Variância Residual	h^2 (Gen)
1	2	72,5253	0,0427
2	9	28,3090	0,0943
3	12	30,4468	0,0891
4	20	27,6606	0,0960
5	23	95,4113	0,0333
6	31	61,9102	0,0492
7	37	26,3120	0,0997
8	42	30,8389	0,0882
9	46	21,1446	0,1172
10	25	48,5795	0,0607
11	66	25,0861	0,1034
12	62	26,9640	0,0979
13	69	25,4367	0,1023
14	72	46,8304	0,0626
15	76	56,6200	0,0532
16	54	37,2066	0,0759

h^2 (Gen): herdabilidade do genótipo.

A Tabela 6 mostra os valores dos componentes de média por procedência (BLUP individual) e os valores do efeito genotípico predito (g) e a média genotípica ($\mu + g$).

Tabela 6. Componentes de média por procedência (BLUP individual).

Ordem	Procedência	g	$\mu + g$	Ganho (cm)	Nova Média (cm)
1	15	5,5259	20,928	5,5259	20,9280
2	3	5,0009	20,403	5,2634	20,6655
3	5	3,0439	18,446	4,5236	19,9257
4	6	1,3921	16,7942	3,7407	19,1428
5	14	0,9602	16,3623	3,1846	18,5867
6	16	0,0178	15,4199	2,6568	18,0589
7	11	-0,0818	15,3203	2,2656	17,6677
8	1	-0,2096	15,1925	1,7256	17,1277
9	12	-0,3642	15,0379	1,5167	16,9188
10	8	-0,9076	14,4945	1,2963	16,6984
11	7	-0,9526	14,4495	1,1089	16,5110
12	9	-1,296	14,1061	0,9239	16,3260
13	13	-1,4226	13,9795	0,7563	16,1584
14	2	-1,7322	13,6699	0,4514	15,8535
15	10	-2,2422	13,1599	0,293	15,6951
16	4	-2,2963	13,1058	0,1491	15,5512

g: efeito genotípico predito; e $\mu + g$: média genotípica ou valores genotípicos

Pelos resultados contidos na Tabela 6 sugere-se que as procedências 15, 3, 5, 6, 14 e 16 irão gerar ganhos em diâmetro na avaliação dos testes genéticos. A média da população é de 15,4021 cm. Utilizando apenas as duas melhores procedências (15 e 3) para uma segunda fase de testes em plantios pilotos, a média da população seria de 20,7967 cm de DAP, acréscimo de aproximadamente 25%, além disso pela avaliação dos parâmetros genéticos na Tabela 4, há a viabilidade de indivíduos de destaque dentro de cada progênie, o que associado à silvicultura clonal, poderá gerar ganhos em diâmetro ainda maiores pela progênie selecionada.

4 CONCLUSÕES

Houve efeito de progênie e procedência pelo teste de deviance, o que permite a seleção para ganhos no melhoramento genético.

A razão entre o coeficiente de variação genética aditiva individual pelo coeficiente de variação residual foi de 1,0049 indicando a viabilidade na seleção.

As procedências destaque foram a 15 (Iron Range), 3 (Pascoe River), 5 (Shipton Flat) e 6 (Blue Mountains), podendo assim gerar híbridos superiores em cruzamento assistido envolvendo genitores dessas procedências.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IBÁ – **Indústria Brasileira de Árvores. Relatório.** IBA 2015. São Paulo. 2017.

KÖPPEN, W. **Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra.** México: Fondo de Cultura Economica, 1948. 478 p.

PINHEIRO, A. L.; LANI, L. L.; COUTO, L. **Cultura do cedro australiano para produção de madeira serrada.** Viçosa, MG: UFV, 2003. 42 p.

MENCK, A.L.M.; ODA, S.; KAGEYAMA, P.Y. 1986. Variação genética em progênies de árvores de pomar de sementes por mudas de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden na região de Birita Mirim. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, 23: 5-14.

RESENDE, M. D. V. de. **Análise estatística de modelos mistos via reml/ blup na experimentação em melhoramento de plantas perenes.** Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 101p. (Documentos, 47).

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

RESENDE, M. D. V. **O software Selegen Reml/Blup.** Campo Grande: Embrapa Informação Tecnológica, 2007. 299 p.

ROSADO, L. R. **Parâmetros genéticos em teste de procedência e progênies de *Toona ciliata* M. Roemer Var. *australis*.** 2015. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal de Lavras, Lavras 2015.

SAMPAIO, P. T. B.; RESENDE, M. D. V.; ARAÚJO, A. J. **Estimativas de parâmetros genéticos e métodos de seleção para o melhoramento genético de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 11, p. 2243-2253, 2000.

SANTOS, A. M. **Melhoramento genético do cedro-australiano (*Toona ciliata* M. Roemer var. *australis*).** 2011. 64 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

SOUZA, J.S.; BARROSO, D.G.; SILVA, M.P.S.; FERREIRA, D.A.; GRAVINA, G.A.; CARNEIRO, J.G.A. 2014. Produtividade de minicepas de cedro australiano e remoção de nutrientes pela coleta sucessiva de miniestacas. **Ciência Florestal** 24: 71-77.

TRIANOSKI, R. et al. Propriedades físicas, químicas e mecânicas da madeira de cedro australiano cultivado em Corupá, SC. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 34, n. 80, p. 435-441, 2014. DOI: 10.4336/2014.pfb.34.80.523.

CAPÍTULO 3 NEAR INFRARED SPECTROSCOPY: RAPID AND ACCURATE ANALYTICAL TOOL FOR PREDICTION OF NON-STRUCTURAL CARBOHYDRATES IN WOOD

ABSTRACT

The non-structural carbon reserves in the various organs of trees are associated with their growth and the mechanism of resilience when exposed to environmental stresses, especially the water deficit. The goal of this study was to develop multivariate models to estimate the amount of non-structural carbohydrates (starch, sucrose, reducing sugars, total sugars and total non-structural carbohydrates) based on near infrared (NIR) spectra measured in solid wood and material reduced to powder. Partial least squares regression was used to associate the amount of non-structural carbohydrates (NSC) obtained by conventional laboratory analysis with NIR spectral signatures. The best predictive models were obtained from the wood reduced to powder. Validity for the NSC prediction in an external set of data presented the following statistics: reducing sugars with $R^2 = 0.90$ and root mean square error (RMSE) of 2.54% dry matter, total sugars ($R^2 = 0.88$, RMSE = 2.76%), total NSC ($R^2 = 0.90$, RMSE = 2.58%), sucrose ($R^2 = 0.82$, RMSE = 0.06%) and starch ($R^2 = 0.80$, RMSE = 1.03%). The ability of models to estimate the NSC concentration in the growth rings and under divergent environmental conditions demonstrates the potential of the NIR tool to study the physiological responses of plants to different environmental stresses.

Keywords: Carbohydrate storage. High-throughput phenotyping. Resilience to environmental stress. Starch. Sugar.

1 INTRODUCTION

Non-structural carbons are organic reserves that act in biochemical processes during the growth, development and survival of plants when subjected to stress situations imposed by the environment. These compounds are simple soluble sugars (glucose, fructose and sucrose), starch, lipids, amino acids, fatty acids and alcohols, being the first two the most significant portion of the energy reserves stored in plants (Hoch et al., 2003; Locosselli; Buckeridge, 2017). Thus, the amount of these reserves available to the plant can be used as important indicators of its potential for growth (Quentin et al., 2011) and its ability to survive environmental stresses (McDowell et al., 2011; O'Brien et al., 2014). These facts, associated with the aforementioned relationships between the levels of non-structural carbohydrates (NSC) reserves and the growth and survival of plants, allow us to conjecture that greater genetic gains for growth and resilience to stress can be achieved by breeding.

For the quantification of NSC, enzymatic extraction techniques and chromatographic procedures are used (Yemm; Willis, 1954; Miller, 1959). However, the laboratory procedures used to detect and quantify NSC are complex, costly and time-consuming, making it difficult to conduct studies that require evaluations in large numbers of samples. To minimize such situations, it is necessary to use techniques that can provide immediate results, but with precision and accuracy close to those provided by traditional methodologies.

In the field of forest sciences, NIR spectroscopy is a non-destructive technique that has been used to estimate wood properties (Tsuchikawa; Kobori, 2015) because of its precision, speed and effectiveness (Schimleck, 2008). In addition, the technique has the advantage of providing results with high repeatability, requiring minimal sample preparation when compared to traditional analytical methods, and allowing the evaluation of large samples (Viana et al.

2009). The predictions are based on NIR spectral signature, which are related to the composition and the chemical bonds of the analyzed material (Pasquini, 2018).

Few studies have been conducted in forest species tissues to predict non-structural carbohydrates by NIR spectroscopy. Ramirez et al. (2015) adjusted multivariate models for the quantification of NSC in different organs of 82 native trees from different biomes of Canada and Colombia. The authors evaluated the total free sugars, starch and NSC content. Wang et al. (2018) have studied the growth and production of *Picea abies* roots with the supply of non-structural carbohydrates present in the different organs of the trees by means of the NIR spectroscopy. However, the fit of multivariate models to quantify NSC was not explored.

In this context, the present study aimed to develop models to estimate the contents of starch, sucrose, reducing sugars, total sugars and total NSC based on NIR spectral signature recorded from samples of solid wood disc and reduced to powder.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Biological material

Samples of *Toona ciliata* M. Roemer var. *australis* with seven years old of age were collected from the municipalities of João Pinheiro (17°44'33" S; 46°10'21" W) and Campo Belo (20°53'50" S; 45°16'38" W), both in the State of Minas Gerais, Brazil. According to Köppen (1948), the climate of the region of João Pinheiro (JP) is classified as Aw: tropical climate with dry winter. Campo Belo (CB) is classified as Cwa: subtropical, rainy and mesothermal.

Four clones (FE, XB, XD and XE) represented by three individuals were used, being 12 trees per municipality, totalizing 24 sampled trees.

2.2 Wood specimens

40 mm thick discs were taken from each tree at a height of 1.30 meters from the ground. These samples were stored in Styrofoam boxes with ice to reduce the enzymatic activity and the possible oxidation of the material.

In the laboratory, the discs were subjected to the microwave for 90 seconds at 600W to denature the enzymes, as described by Popp et al. (1996). Afterwards, they were taken to a forced air circulation oven at 60°C to constant mass for complete removal of the water without altering the starch for thermal degradation. The cross-sectional surfaces of the discs were sanded with 60, 120 and 180 sandpapers, in order to better reveal and individualize the growth rings.

2.3 Spectral Acquisition

The Bruker FT-NIR spectrometer (Optik GmbH, Ettlingen, Germany), MPA model, with integrating sphere and interferometer, was used to collect the spectra directly on the cross-sectional face of each disc, positioned at two opposite points of each growth ring, by means of the optical fiber in the range from 12,500 cm^{-1} to 3,500 cm^{-1} with a spectral resolution of 8 cm^{-1} in diffuse reflection mode. Each spectrum represented the average of 16 scans.

After collecting the spectra in the discs, the growth rings were individualized, reducing them to splinters, with the aid of a planer. The splinters were milled in a 40 mesh sieve for particle size classification and the powder was stored in plastic bags and saved in a freezer at -20°C. The powder spectral was acquired through by the integrating sphere with the same features of the disc spectral resolution.

The spectral acquisitions, in the solid wood disc and in powder, were carried out in a heated room (17°C and 60-65% RH) and collected through the software OPUS 7.5.

2.4 NSC chemical analysis

Powder aliquots (0.200 g) were taken from each sample for the extraction of sugars (reducing sugars and sucrose). Samples were homogenized in 100 mM potassium phosphate buffer, pH 7.0, and then warmed in a water bath at 40°C for 30 minutes. The homogenate was centrifuged at 5,000 g for 10 minutes, and the supernatant was collected. The supernatant was used for sucrose extraction and quantification of reducing sugar. The pellet was resuspended and used for starch extraction (Zanandrea et al., 2010).

For the determination of sucrose, 800 µL micromolecule extract was added to 800 µL 30% KOH (Van Handel, 1968), placed in a water bath at 37°C for 15 minutes and quantified by the Antrona method (Yemm and Willis, 1954)

Reducing sugars were quantified by the Dinitrosalicylic Acid Method (DNS), according to Miller (1959). The total sugars were represented by the sum of the sucrose with the reducing sugars contents.

To determine the starch, the extraction precipitate was resuspended with 8 mL of the 200 mM potassium acetate buffer pH 4.8, 2 mL of 1mg/mL amyloglucosidase enzyme was added and the sample was incubated in a water bath at 40°C for 2 hours. After incubation, the material was centrifuged at 10,000g for 20 minutes, the supernatant was collected and the volume of the material was completed to 15 mL with distilled water. Starch determination was done by the Antrona method (Yemm and Willis, 1954).

The content of total non-structural carbohydrates (total NSC) was determined by summing the total sugars and starch.

The NSC concentrations are expressed as percentage of dry matter (%DM) according to Equation 1.

$$NSC (\%DM) = \frac{NSC (\mu\text{mol glucose}) \times 180 (\text{molecular weight of glucose})}{10^6} \times 100 \quad (1)$$

2.5 Multivariate analysis

NIR spectra are subjected to interference from several factors, and therefore, the pretreatment of the data collected in the spectrum is necessary to reduce noise and improve calibration fit and validation of the models to be predicted.

Thus, the spectra used for the calibration of the models to predict the NSC contents were filtered, using only the wave numbers from 9,000 to 4,000 cm^{-1} .

Principal component analyses were performed to detect outliers. After the analysis, outlier detection tests were also carried out, observing leverages x studentized residuals plots, for each NSC content.

Finally, for the analyses, the spectral data were treated by the first derivative of second-degree polynomials using the Savitzky and Golay (1964) algorithm, with 15 smoothing points, since these led to better results when compared to the original spectra.

The selected samples were analyzed by two methods. The first considered all samples with complete cross validation. In the second approach, the samples were divided into two subsets: calibration (66%) and external validation (33%). The selection of samples from each subset was performed using the Kennard-Stone algorithm (Kennard and Stone, 1969).

Partial Least Squares Regression (PLS-R) was applied to associate the variations in the spectra (Matrix X) with the variations in the NSC (Matrix Y). The selection of the best regression models was based on the following criteria: coefficient of determination (R^2), root mean square error (RMSE) and the ratio of performance to deviation (RPD) (Equation 2), where RPD is the ratio of the standard deviation (SD) of the sample to the root mean square error.

$$RPD = \frac{SD}{RMSE} \quad (2)$$

All the statistical analyses were run using the software Chemoface version 1.5 (Nunes et al., 2012).

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 NIR spectra and its pre-treatments

Figure 1 illustrates the near infrared signatures taken from wood disc and powder samples.

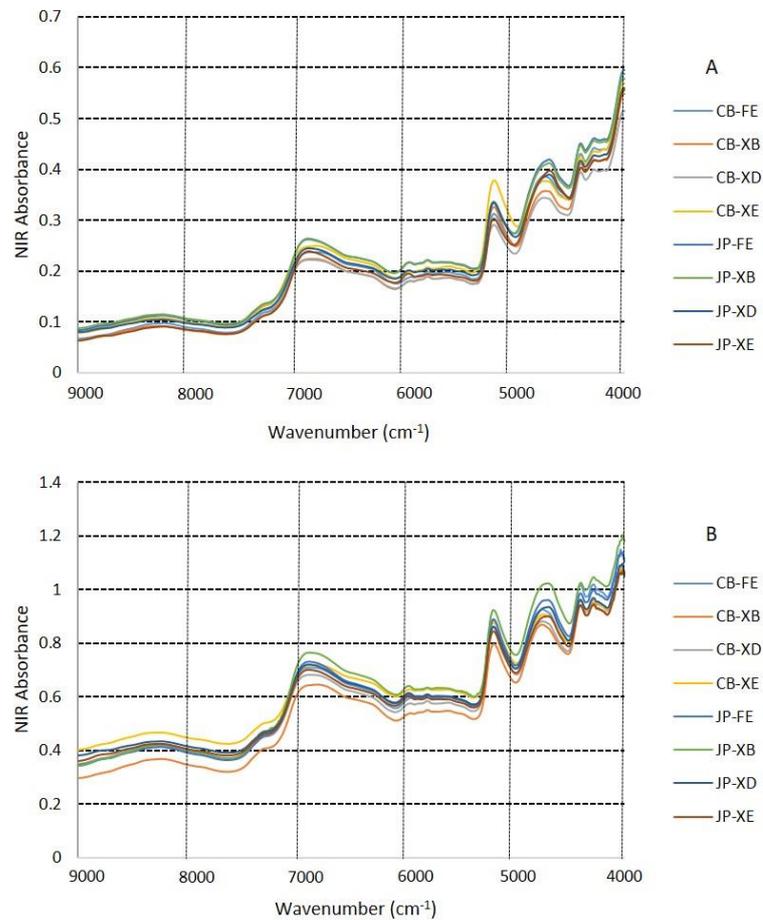


Figure 1. Original NIR spectra collected on powder-reduced material (A) and wood disc (B).

With the spectra of the different types of sample preparation, principal component analyses were performed, removing one outlier from the disc spectrum and two for the powdered material. In addition, a clone of the environment of João Pinheiro drastically reduced

the fit of the model for starch analysis. This may have been due to errors in the execution of laboratory protocols. Thus, the spectra along with their reference values were discarded, justifying the N of 147 used for calibration of this characteristic.

Prior to calibration, all spectra were preprocessed by different techniques to eliminate or minimize variability that are not related to the characteristics studied. The best results, which gave the lowest RMSEcv values, were obtained using the Savitzky - Golay first derivative, with different points for each NSC evaluated. The graphs of the treated spectra are shown in Figure 2.

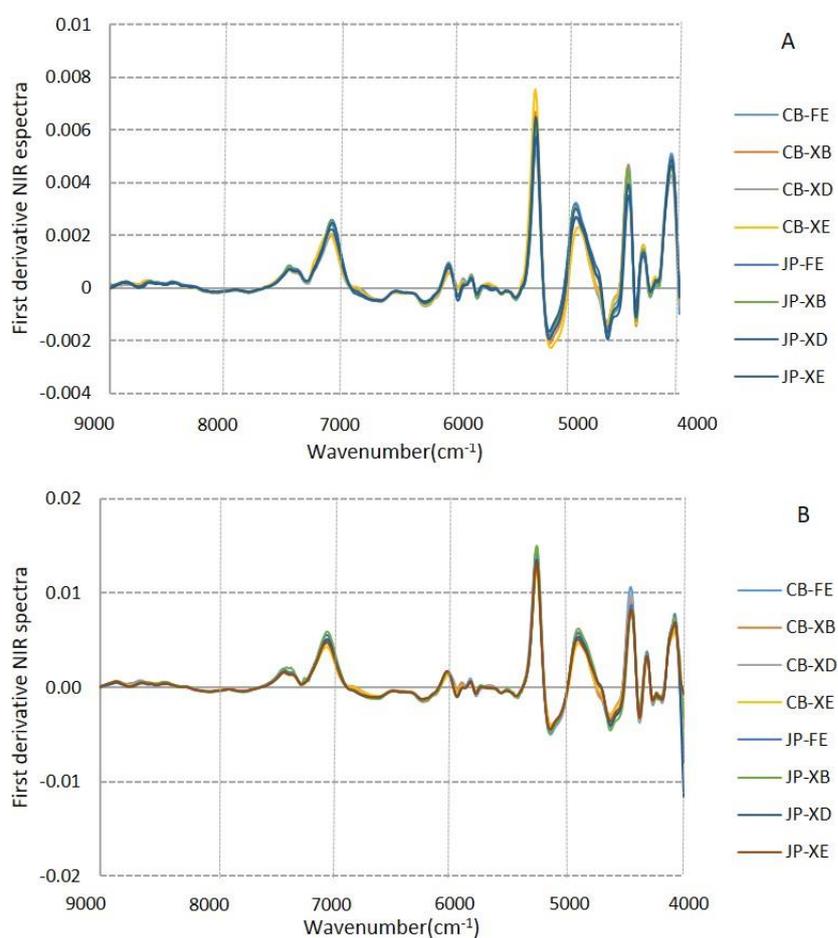


Figure 2. Spectra treated by the first derivative of the NIR collected on powder-reduced material (A) and the wood disc (B).⁻¹

3.2 Principal Component Analysis

The principal component analysis of spectra treated by the first derivative (Figure 3) were performed in the two physical forms, disc (1) and powder (2) to distinguish the locations of each material (Figure 3A), the clones present in the study (Figure 3B) and the growth rings (Figure 3C) of each tree sampled. In the disc, two distinct groups were formed for the different localities, but with some similarities between them, a factor that is associated with the different clones used, to the powder two distinct groups were formed, but with similar areas, a factor associated with the growth rings sampled, however the distinction of localities is more evident to the powder. No distinction or grouping was observed for the clones, considering the results obtained, except for the XB clone in the powder sampling. For the growth rings, with some similarities due to the divergent sites, 4 distinct groups were formed: group 1 (rings 1, 2, 3 and 4), group 2 (ring 5), group 3 (ring 6) and group 4 (ring 7). This divergence or grouping is deduced by the presence of active cells in the different types of wood (adult or juvenile), specific physiological needs in each ring for the non-structural carbohydrates and the flow of these carbohydrates under different water regimes for the repair of the embolized vessels (Deslauriers et al., 2009; Nardini et al., 2011). In the powder, the distinction between localities was more evident than that represented by the spectra collected on the disc. For the clones, there was also more evident grouping and similarities, but for the different growth rings, the grouping is more noticeable in the disc material.

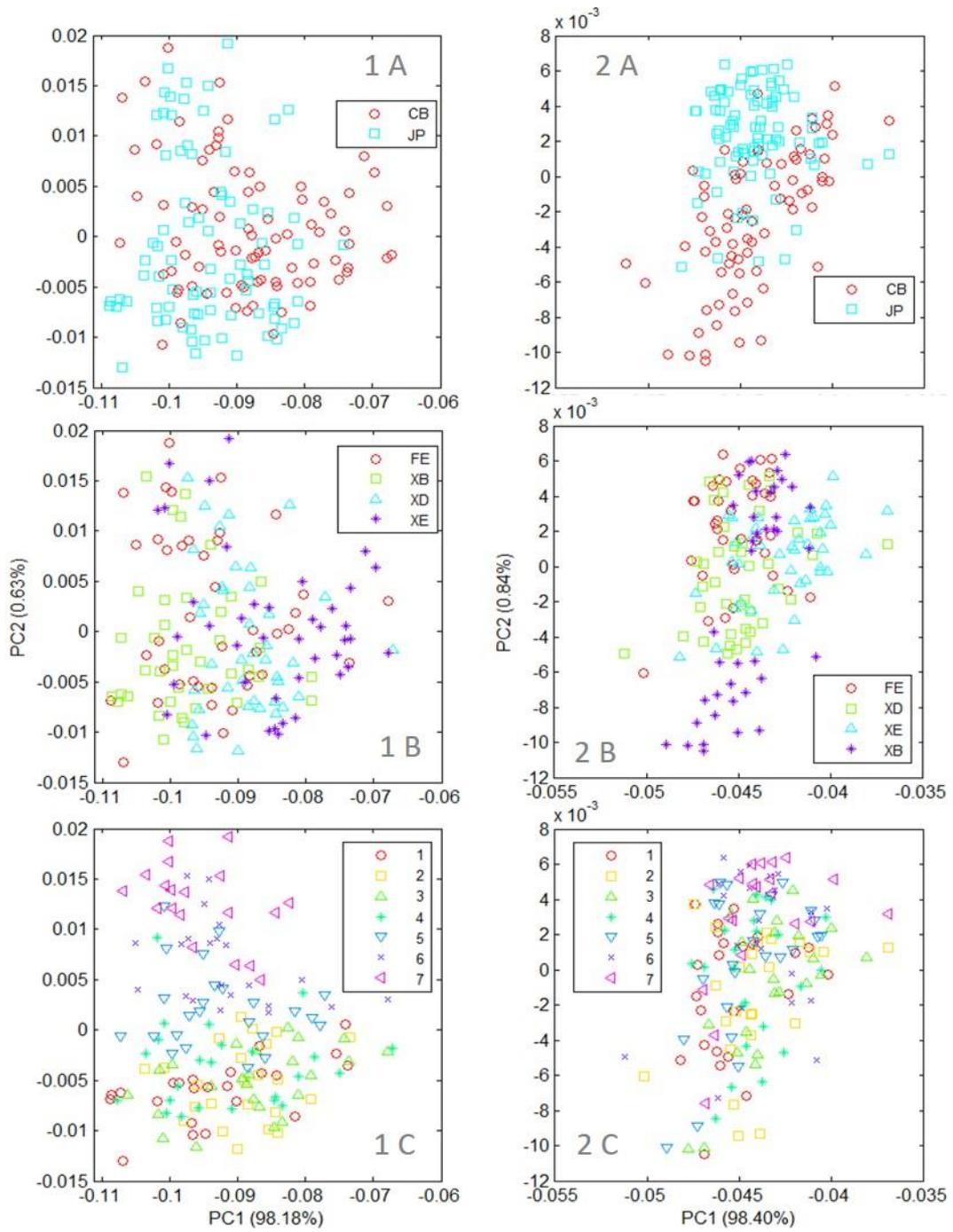


Figure 3. PCA scatter plot for the spectra indicating different localities (A), clones (B), growth rings of each sampled tree (C), Disc (1) and Powder (2); Growth rings: 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7.

3.3 Partial Least Squares Regression (PLS-R)

PLS-R of the spectra obtained by the NIR and the reference values produced satisfactory calibration models for all studied NSC (Table 1).

Table 1. Parameters of the PLS-R models according to the type of non-structural carbohydrate in wood discs and powder.

NSC	Starch		Sucrose		Reducing sugars		Total sugars		Total NSC	
	Disc	Powder	Disc	Powder	Disc	Powder	Disc	Powder	Disc	Powder
Models										
	Calibration									
Number of samples	97	98	110	107	110	108	110	109	109	105
Number of outliers	1	8	6	8	3	6	3	4	4	10
LV	10	10	12	10	7	10	6	10	7	13
Minimum (%DM)	0.19	0.19	0.02	0.03	0.25	0.03	0.29	0.06	0.49	0.49
Maximum (%DM)	15.52	12.17	0.85	0.85	39.07	39.07	39.34	39.34	40.01	40.01
Mean (%DM)	2.45	2.06	0.22	0.23	8.28	9.38	8.49	9.83	10.87	12.25
SD (%DM)	2.89	2.07	0.19	0.17	7.50	8.37	7.56	8.66	7.45	8.45
R ² c	0.83	0.92	0.93	0.92	0.80	0.95	0.79	0.95	0.79	0.97
RMSEc (%DM)	1.18	0.57	0.05	0.05	3.38	1.85	3.41	1.91	3.41	1.50
Validation method	Cross Validation									
R ² cv	0.67	0.69	0.84	0.83	0.73	0.89	0.73	0.90	0.69	0.89
RMSEcv (%DM)	1.66	1.16	0.07	0.07	3.86	2.72	3.90	2.78	4.18	2.77
RPDcv	1.75	1.79	2.70	2.24	2.01	3.08	1.94	3.11	1.79	3.04
Validation method	External Validation									
Number of samples	49	46	54	53	55	54	55	55	55	53
Minimum (%DM)	0.25	0.21	0.03	0.02	0.03	0.44	0.06	0.49	0.53	0.91
Maximum (%DM)	13.82	10.98	0.58	0.76	32.50	32.50	32.69	32.69	33.71	33.71

Mean (%DM)	1.78	1.59	0.22	0.17	11.04	9.25	11.26	9.53	12.60	10.54
SD (%DM)	2.59	2.14	0.14	0.17	8.71	7.94	8.75	7.97	8.29	7.83
R ² p	0.72	0.80	0.73	0.82	0.78	0.90	0.78	0.88	0.72	0.90
RMSEp (%DM)	1.38	1.03	0.07	0.06	4.31	2.54	4.34	2.76	4.38	2.58
RPDp	1.88	2.08	1.93	2.24	2.01	3.13	2.02	2.88	1.89	3.03
Bias (%DM) ^a	0.18	-0.16	0.01	-0.01	-1.18	0.27	-1.19	0.17	-0.26	0.37

^a: mean of the estimated values - means of the measured values; LV: latent variable.

By the descriptive analysis of the mean, maximum, minimum and standard deviation, a high variation between the NSC of samples were observed. This was due to the difference between the two environments studied (Rainfall: Campo Belo – 1,406 mm annually and João Pinheiro – 1,241 mm), climate changes over time, carbohydrate mobility between rings, which marked the annual growth of the *Toona ciliata* and four different clones.

By observing separately, the parameters for the sampling performed on the discs, satisfactory calibration models were found to determine the NSC ($R^2_{cv} > 0.67$). The best model, when observed its validation with external data, was obtained for total sugars ($R^2p = 0.78$ and $RMSEp = 4.34\%$) and the worst for starch ($R^2p = 0.72$ and $RMSEp = 1.38\%$).

The material reduced to powder gave better calibration models compared to the data obtained straight from the disc ($R^2_{cv} > 0.69$). In the external validation, the best models were for reducing sugars ($R^2p = 0.90$ and $RMSEp = 2.54\%$) and the worst was again for starch ($R^2p = 0.80$ and $RMSEp = 1.03\%$). The parameters of the models found in this study are similar to those found in the literature, however in different tissues and plant species (Chen et al., 2014; Ramirez et al., 2015; Quentin et al., 2017).

According to the classification of the coefficients of determination and the RPD referred by Saeys et al. (2005), it may be inferred that for the prediction of constituents of NSC, this will quantify approximately the contents of reducing sugars and total sugars. On the other hand, for

starch, sucrose and total NSC, it would only be capable of discriminating their contents between highs and lows.

More accurate models were found in the analyses made on wood reduced to powder. According to the classification used, the contents of starch and sucrose can be quantified approximately, the total sugars will be predicted optimally and the reducing sugars and total NSC will be quantified with an excellent prediction.

The collection of spectral signatures with the integrating sphere resulted in better fits when compared to the collection with the optical fiber probe. In addition to the sampling method, the physical structure of the wood must also have influenced this result. Hein et al. (2010) have stated that milled wood provides better results than solid wood on NIR prediction of chemical properties of *Eucalyptus urophylla*.

Figure 4 shows the relationship between the chemical reference values and the NIR-predicted values of the different structures analyzed. In general, the models yielded a satisfactory prediction power for the NSC content.

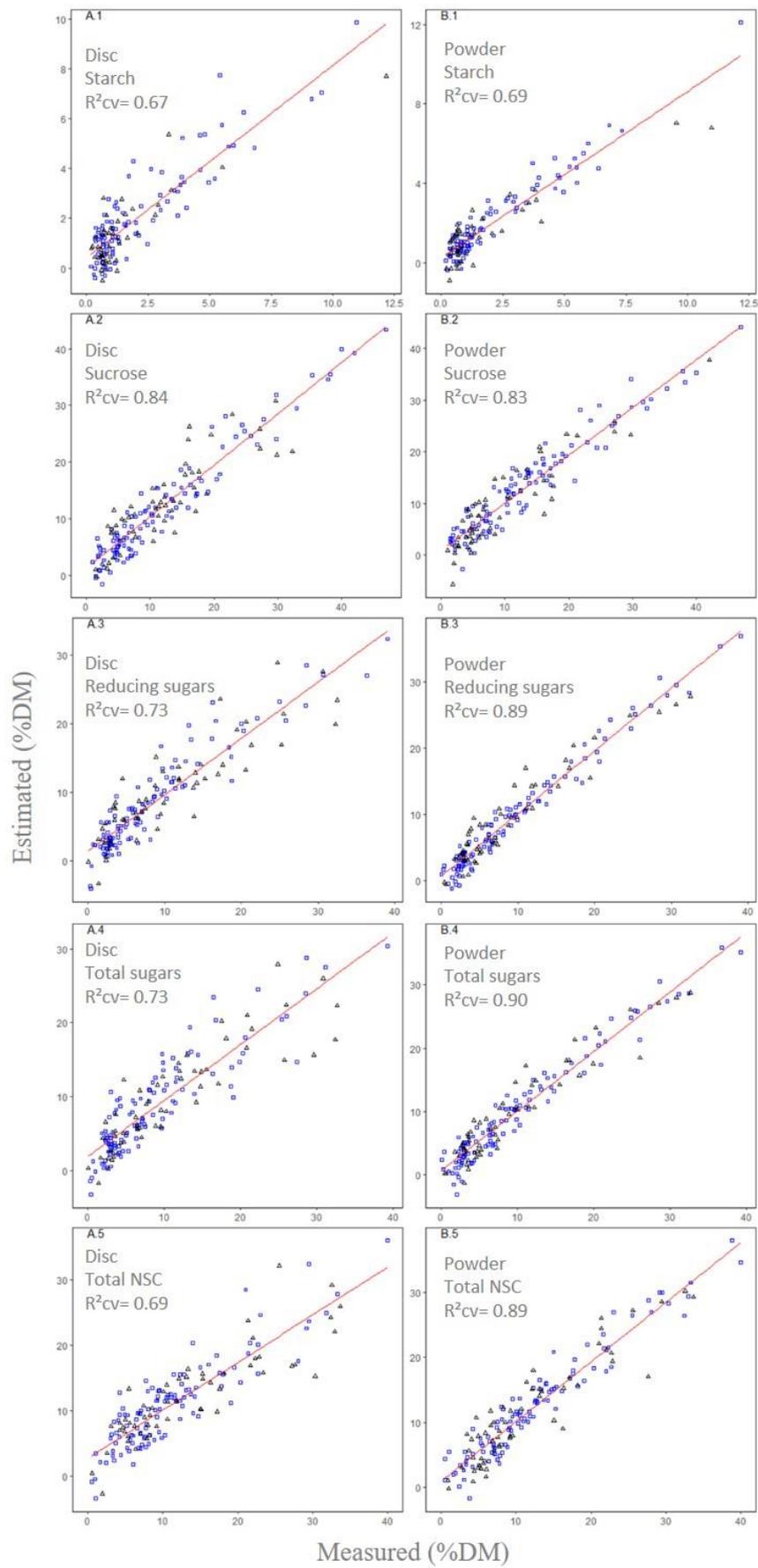


Figure 4. Correlation between the predicted values and the observed values for the contents of starch (1), sucrose (2) reducing sugar, (3) total sugars and (4) and total NSC (5) in *Toona ciliata* wood. Samples for the disc (A) and for the wood reduced to powder (B) are represented to the left and the right, respectively. Legend: \square cross-validation; Δ external validation.

From the partial least squares regression, we constructed the graph of each non-structural carbohydrates from the perspective of the wavelength versus regression coefficients for the disc and for the wood reduced to powder (Figure 5) in order to relate the largest regression coefficients, positive and negative, with the wavenumber where a given NSC is most expressed.

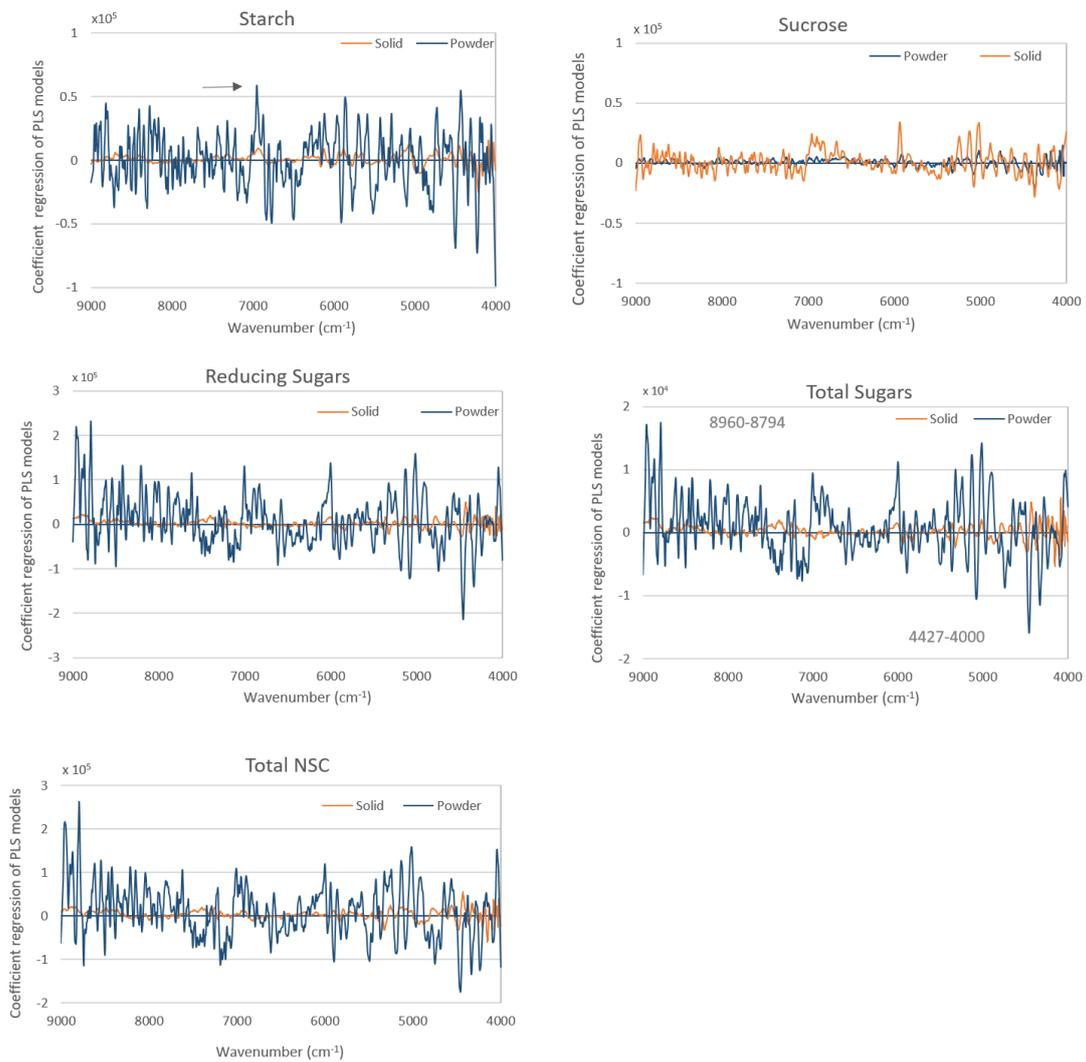


Figure 5. Partial least squares regression coefficients according to wavelengths for the non-structural carbohydrates in the disc and the powder of *Toona ciliata* wood obtained by the optical fiber and the integrating sphere.

The highest coefficients were found for the material reduced to powder, a fact associated with better penetration of the light beam in the spectral acquisition in the integrating sphere. The starch can be measured by the vibrational modes presented in the range of 4,200 to 4,000 cm^{-1} in the wood reduced to powder, where there was also a peak at 6,954 cm^{-1} . For sucrose, the regression coefficients were not as expressive as the other NSC, there was also a great variation in the relationship of the coefficients with the wavelength. Reducing sugars can be detected in wavelengths in the order of 4,400-4,000 cm^{-1} in the material reduced to powder there were also high relationships in the bands of 8,964-8,794 cm^{-1} . Total sugars were more present in the wavelength of 4,427-4,076 cm^{-1} , and in the material reduced to powder, there was also significant interference of wavelengths of 5,014 cm^{-1} and 8,960-8,794 cm^{-1} . For total NSC, the spectral range with the highest relationship was 4,458-4,000 cm^{-1} , while in the powder there was also a relationship with the wavelengths of 8,956-8,794 cm^{-1} . These peaks are in accordance with the information provided in Workman and Weyer (2007) and the band assignments in NIR spectra of wood reported in Schwanninger et al. (2011). However, some peak locations differ from those found by Quentin et al. (2017), who reported the most explanatory regression coefficients at wavelengths in the order of 5,180-5,200 cm^{-1} and 5,260-5,270 cm^{-1} for fructose and reducing sugars, respectively. According to Ramirez et al. (2015), the regions where sugars, starch and total carbohydrates were detected are located at wavelengths in the order of 5,747-5,555 cm^{-1} , 4,761-4,347 cm^{-1} and 4,149-4,016 cm^{-1} , respectively.

Partial least squares regression (PLS-R) analysis was also performed with 100% of the data (Table 2), thus obtaining a model for the quantification of NSC for other individuals.

Table 2. Parameters of the PLS-R models according to the type of NSC in the two sampled forms, in the disc and in the wood reduced to powder with 100% of the data.

NSC	Starch		Sucrose		Reducing sugars		Total sugars		Total NSC	
	Disc	Powder	Disc	Powder	Disc	Powder	Disc	Powder	Disc	Powder
Calibration										
Number of samples	140	139	162	160	165	162	165	164	164	162
Number of outliers	7	8	6	8	3	6	3	4	3	4
LV	10	12	12	10	11	12	11	10	10	11
Minimum (%DM)	0.19	0.19	0.02	0.02	0.03	0.03	0.06	0.06	0.49	0.49
Maximum (%DM)	12.17	12.17	0.85	0.85	39.01	39.07	39.34	30.34	40.01	40.01
Mean (%DM)	1.91	1.91	0.21	0.21	9.20	9.34	9.42	9.73	11.45	14.28
SD (%DM)	2.12	2.10	0.17	0.17	8.01	8.21	8.05	8.41	7.77	9.21
R ² c	0.80	0.90	0.91	0.91	0.85	0.95	0.85	0.93	0.83	0.95
RMSEc (%DM)	0.94	0.66	0.05	0.05	3.04	1.76	3.06	2.18	3.19	1.92
Validation method										
Cross-validation										
R ² cv	0.67	0.74	0.83	0.84	0.77	0.91	0.77	0.89	0.74	0.90
RMSEcv (%DM)	1.21	1.08	0.07	0.07	3.87	2.53	3.89	2.76	3.97	2.65
RPDcv	1.74	1.76	2.44	2.50	2.07	3.25	2.07	3.04	1.96	3.47

The results show that the PLS-R calibration ($R^2 > 0.80$), and cross-validation ($R^2 > 0.67$) presented satisfactory statistics for the models based on the disc spectra. The models allow the quantification of non-structural carbohydrates in the approximate values, for starch, reducing sugars, totals sugars and total NSC, and good predictions for sucrose, considering R^2 . Based on the RPD and the classification proposed by Saeys et al. (2005), the models will allow the starch

to be quantified as high or low content, sucrose will be predicted as approximate values. Reducing sugars, total sugars and total NSC can be investigated with excellent predictions and, for sucrose, the association of measured values and estimates will be excellent.

These results, as well as the works by Batten et al. (1993), Decruyenaere et al. (2012), Ramirez et al. (2015) and Quentin et al. (2017) demonstrated the great potential of NIR in analyzing non-structural carbohydrates in various tissue types in plants.

4 PERSPECTIVES

This tool becomes more useful with the increasing number of samples to be analyzed, given the decrease in the time and reagents of laboratories demanded, as well as the economy in the workforce. One strategy would be to use the predictions of the NIR by the disc or core, taken from the trees, to group or classify the genotypes with low, medium and high values of NSC. When the number of individuals is smaller, the wood can be ground, which will take a little more time and labor, but it will be possible to quantify the NSC more precisely.

With satisfactory calibrated models for both types of samples, NIR spectroscopic models can be used for studies of *Toona ciliata* and other genera, assisting ecologists, physiologists, and genetic plant breeders to better understand the relationship between NSC with plant growth and mortality under influence of environmental stresses.

5 CONCLUSIONS

The models based on the NIR spectroscopy demonstrated applicability in the quantification of the non-structural carbohydrates in the *Toona ciliata* wood.

All the PLSR multivariate fits for the non-structural carbohydrates were better in the wood powder samples.

The lowest R^2 of the external validation was observed for starch in the two physical forms of samples, $R^2 = 0.72$ for the disc and 0.80 for the powder. The higher values were found for reducing sugars and total sugars, $R^2 = 0.78$ for the disc and 0.90 for the powder.

The values of RPD followed the trend of R^2 and were lower for starch, 1.88 for the disc and 2.08 for the powder. The largest were for the reducing sugars, 2.01 for the disc and 3.13 for the powder.

The root mean square error (% DM) was lower for sucrose, 0.07% for the disc and 0.06% for the powder. While the largest errors were verified for the total non-structural carbohydrates, in the order of 4.38% for the disc and 2.58% for the powder.

Depending on the sample size, the use of the wood disc for collecting the spectra via optical fiber can be used for the qualitative determination of the samples. For the most precise quantification, wood must be reduced to powder, and the integrating sphere must be used for collecting the spectra.

REFERENCES

- BATTEN, G. D.; BLAKENEY, A. B.; MCGRATH, V.B.; CIAVERELLA, S. Non-structural carbohydrate: Analysis by near infrared reflectance spectroscopy and its importance as an indicator of plant growth. **Plant and Soil**, v. 155, n. 1, p. 243-246, 1993.
- BRUKER, Opus 5.5, Bruker Optik, Ettlingen, Germany. 2005.
- CHEN, S. F.; DANAÑO, M. G. C.; SINGH, V.; & BROWN, P. J. Determining sucrose and glucose levels in dual-purpose sorghum stalks by Fourier transform near infrared (FT-NIR) spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 12, p. 2569-2576, 2014.
- DECRUYENAERE, V.; CLÉMENT, C.; AGNEESSENS, R.; LOSSEAU, C.; STILMANT, D. Development of near-infrared spectroscopy calibrations to quantify starch and soluble sugar in the roots of *Rumex obtusifolius*. **Weed research**, v. 52, n. 1, p. 1-5, 2012.
- DESLAURIERS, A.; GIOVANELLI, A.; ROSSI, S.; CASTRO, G.; FRAGNELLI, G.; TRAVERSI, L. Intra-annual cambial activity and carbon availability in stem of poplar. **Tree Physiology**, v. 29, n. 10, p. 1223-1235, 2009.
- HEIN, P. R. G.; LIMA, J. T.; CHAIX, G. Effects of sample preparation on NIR spectroscopic estimation of chemical properties of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake wood. **Holzforschung**. 6 (1): 45-54, 2010.
- HOCH, G.; RITCHER, A.; KORNER, C. Nonstructural carbon compounds in temperate forest trees. **Plant, Cell & Environment**, v. 26, n. 7, p. 1067-1081, 2003.
- KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Technometrics. *Comp Aided Design Exp*, v. 11, p. 137-148, 1969.
- KÖPPEN, W. **Climatologia**. México. Fundo de Cultura Econômica, 1948.

LOCOSSELLI, G.; BUCKERIDGE, M.S. Dendrochemistry, a missing link to further understand carbon allocation during growth and decline of trees. **Trees**, v. 31, n. 6, p. 1745-1758, 2017.

MCDOWELL, N. G.; BEERLING, D. J.; BRESHEARS, D. D.; FISHER, R. A.; RAFFA, K. F.; STITT, M. The interdependence of mechanisms underlying climate-driven vegetation mortality. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 26, n. 10, p. 523-532, 2011.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

NARDINI, A.; GULLO, M. A. Lo; SALLEO, S. Refilling embolized xylem conduits: is it a matter of phloem unloading? **Plant Science**, v. 180, n. 4, p. 604-611, 2011.

NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

O'BRIEN, M. J.; LEUZINGER, S.; PHILIPSON, C. D.; TAY, J.; HECTOR, A. Drought survival of tropical tree seedlings enhanced by non-structural carbohydrate levels. **Nature Climate Change**, v. 4, n. 8, p. 710, 2014.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy - A mature analytical technique with new perspectives - A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1026, p. 8-36, 2018.

POPP, M.; LIED, W.; MEYER, A. J.; RITCHER, A.; SCHILLER, P.; SCHWITTE, H. Sample preservation for determination of organic compounds: microwave versus freeze-drying. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 10, p. 1469-1473, 1996.

QUENTIN, A. G.; BEADLE, C. L.; O'GRADY, A. P.; PINKARD, E. A. Effects of partial defoliation on closed canopy *Eucalyptus globulus* Labillardière: growth, biomass allocation and carbohydrates. **Forest Ecology and Management**, v. 261, n. 3, p. 695-702, 2011.

QUENTIN, A. G.; RODEMANN, T.; DOUTRELEAU, M. F.; MOREAU, M.; DAVIES, N.W.; MILLARD, P. Application of near-infrared spectroscopy for estimation of non-structural carbohydrates in foliar samples of *Eucalyptus globulus* Labillardière. **Tree Physiology**, v. 37, n. 1, p. 131-141, 2017.

RAMIREZ, J. A.; POSADA, J. M.; HANDA, I. T.; HOCH, G.; VOHLAND, M.; MESSIER, C.; REU, B. Near-infrared spectroscopy (NIRS) predicts non-structural carbohydrate concentrations in different tissue types of a broad range of tree species. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, n. 9, p. 1018-1025, 2015.

SAEYS, W.; MOUAZEN, A. M.; RAMON, H. Potential for onsite and online analysis of pig manure using visible and near infrared reflectance spectroscopy. **Biosystems Engineering**, v. 91, n. 4, p. 393-402, 2005.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least-squares procedures. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 8, p.1627-1639, 1964.

SCHIMLECK, L. R. Near infrared spectroscopy: a rapid, non-destructive method for measuring wood properties and its application to tree breeding. **New Zealand Journal of Forestry Science**, v. 38, n. 1, p. 14-35, 2008.

SCHWANNINGER, M.; RODRIGUES, J.C.; FACKLER, K. A review of band assignments in near infrared spectra of wood and wood components. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 19, p. 287- 308, 2011.

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

VAN HANDEL, E. V. Direct microdetermination of sucrose. **Anal Biochem**. 22, p. 280-283, 1968.

VIANA, L.C.; TRUGILHO, P.F.; HEIN, P.R.G.; LIMA, J.T. SILVA, J.R.M. Predicting morphological characteristics and basic density of Eucalyptus wood using the NIRS technique. **Cerne**, v.15, n.4, 421-429, 2009

WANG, Y.; MAO, Z.; BAKKER, M. R.; KIM, J. H.; BRANCHERIAU, L.; LECLERC, R.; SELLI, L.; REY, H.; JOURDAN, C.; STOKES, A. Linking conifer root growth and production to soil temperature and carbon supply in temperate forests. **Plant and Soil**, v. 426, n. 1-2, p. 33-50, 2018.

WORKMAN, J.J.; WEYER L. Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 332 (2007)

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, v. 64, p. 81-96, 1954.

ZANANDREA, I.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; DE GOULART, F. P.; HENRIQUE, P. D. C.; SILVEIRA, N. M. Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. **Australian Journal of Botany**, v. 57, n.8, p. 661-669, 2010.

CAPÍTULO 4 PADRÃO DE VARIAÇÃO RADIAL DOS CONTEÚDOS DOS CARBOIDRATOS NÃO ESTRUTURAIS NA MADEIRA E SUA RELAÇÃO COM AS VARIÁVEIS AMBIENTAIS DE ORIGEM

RESUMO

A mudança climática prevista para o século XXI pode comprometer a homeostase celular da base da pirâmide ecológica ambiental fazendo com que toda a teia alimentar se desequilibre de forma insustentável. As mudanças ambientais já ocorreram no passado e por meio de processos evolutivos as árvores fizeram adaptações que permitiram sua continuada existência. Os carboidratos não estruturais (CNE's) apresentam-se como uma ferramenta que possibilitou a perpetuação de algumas espécies frente as condições ambientais adversas, seja na disponibilidade de energia para o crescimento e desenvolvimento, na ação antioxidante das células ou também na reparação da cavitação/embolismo do xilema durante períodos de déficit hídrico ou altas temperaturas. O objetivo do trabalho foi identificar o padrão de variação radial dos CNE's no lenho da espécie *Toona ciliata* M. Roemer var. *australis*, correlacionar os níveis de precipitação e temperatura das localidades de origem das procedências com os teores dos CNE's e avaliar a possível ativação da memória do estresse transgeracional para a espécie. Foram avaliadas 16 procedências de um teste piloto na cidade de Campo Belo- MG com 10 anos de idade representadas por 3 indivíduos por procedência. A avaliação das precipitações foi realizada por meio do índice padronizado de precipitação (IPP) e pela magnitude de seca (MS) de cada localidade de origem das sementes que formaram o teste piloto, os índices de temperatura e precipitação foram obtidos por meio de estações meteorológicas australianas. Os padrões de variação radial da quantidade de amido e sacarose na madeira tiveram comportamento crescente no sentido medula casca, enquanto que os açúcares redutores, açúcares totais e CNE's totais tiveram de maiores teores na região central. Os teores máximos dos CNE's avaliados tiveram maior relação com as magnitudes de seca, enquanto que a temperatura mínima dos locais de origem teve a maior correlação com as quantidades média dos CNE's. As procedências 5, 15 e 16 apresentaram os menores conteúdos de amido e as maiores variações de estresse em precipitação, sugere-se então que essas procedências serão mais resilientes à seca e que a memória do estresse transgeracional seja ativa nas sementes produzidas por essas procedências.

Palavras chave: Amido. Déficit hídrico. Magnitude de seca. *Toona ciliata*

ABSTRACT

The predicted climate change for the 21st century may compromise cellular homeostasis at the base of the environmental ecological pyramid, causing the entire food web to become unsustainably unbalanced. Environmental changes have already occurred in the past and through evolutionary processes the trees have made adaptations that allowed their continued existence. Non-structural carbohydrates (NSC's) are presented as a tool that allowed the perpetuation of some species in adverse environmental conditions, either in the availability of energy for growth and development, in the antioxidant action of the cells or also in the repair of cavitation / embolism of xylem during periods of water deficit or high temperatures. The objective of this work was to identify the pattern of radial variation of NSC's in the *Toona ciliata* wood. M. Roemer var. *australis*, to correlate the levels of precipitation and temperature of the provenances origin localities with the NSC's contents and to evaluate the possible activation of the transgenerational stress memory for the species. Sixteen provenances of a pilot test were evaluated in the city of Campo Belo, MG, Brazil, with 10 years of age, represented by 3 individuals per source. The precipitation evaluation was performed using the standardized precipitation index (SPI) and the drought magnitude (DM) of each seed source location, the temperature and precipitation indexes were obtained through meteorological stations Australians. The patterns of radial variation of the amount of starch and sucrose in the wood had increasing behavior in the spinal cord, whereas the reducing sugars, total sugars and total NSC had higher levels in the central region. The maximum values of the NSC's evaluated had higher relation with the drought magnitudes, whereas the minimum temperature of the places had the highest correlation with the average amounts of the NSC's. The provenances 5, 15 and 16 showed the lowest starch contents and the greatest stress variations in precipitation, it is suggested that these sources will be more resilient to drought and that the memory of transgenerational stress be active in the seeds produced by these provenances.

Keywords: Starch. Drought magnitude. Water deficit. *Toona ciliata*

1 INTRODUÇÃO

Mudanças paleoclimáticas severas ocorreram no passado e, conforme simulações, poderão ocorrer em taxas semelhantes no futuro (BRACONNOT, 2012). Pela recorrência das mudanças climáticas globais é que se deve salvaguardar um dos princípios fundamentais da biologia, que justifica a variação genética como precursora dos processos evolutivos (RAPP; WENDEL, 2005). No contexto de noção fundamental neodarwiniana, há, portanto, que se considerar que as espécies, dentre essas, as arbóreas são constituídas de populações que evoluíram por milhões de anos para possibilitar sua sobrevivência em cenários diversos de estresses ambientais.

Árvores crescendo sob condições de estresse ambiental, tendem a limitar seu crescimento e acumular carboidratos não estruturais (CNE's) para garantir sua integridade. Estes resultados foram comprovados sob efeito de estresses, tais como: o estresse térmico (HOCH; KÖRNER 2003; HOCH et al., 2003; FAJARDO et al., 2013), estresses hídricos (BREDA et al., 2006; GRUBER et al., 2012) e desfolha intencional (HOCH, 2005; PALACIO et al., 2008).

Os carboidratos não estruturais possuem múltiplas funções nas plantas, como: manutenção e retomada do crescimento; proteção da integridade fisiológica das árvores, como pressão osmótica e estado energético; respostas aos estresses ambientais, como seca, inundação e geada; defesa contra pragas e patógenos e; também na reparação do embolismo (KÖRNER, 2003; DIETZE et al., 2014). A quantidade de carboidratos está associada a sobrevivência, crescimento a longo prazo a mortalidade das árvores (MCDOWELL et al., 2011).

Como fonte primária para as reações hidrolíticas, que mantém a atividade metabólica vital para as plantas, a disponibilidade de água para as plantas é fator primordial para o seu desenvolvimento, crescimento e sobrevivência. Yoshimura et al. (2012) avaliaram a taxa de sobrevivência dos ramos de duas espécies tolerantes à seca, *Hibiscus glaber* Matsum. e *Ligustrum micranthum* Zucc, submetidas à escassez de água no solo e as relacionou com a falha hidráulica dos dutos xilemáticos tendo como variável resposta os conteúdos de CNE's. Os autores concluíram que a estoque de amido reduziu à medida que a concentração de água no solo também diminuía, inversamente os açúcares solúveis aumentavam, fator esse que aumentava a proteção contra a cavitação. Somado a isso, ainda constataram que indivíduos saudáveis possuíam altos teores de amido em sua composição. O'Brein et al. (2014) e Secchi & Zwieniecki (2011) afirmaram por meio de testes experimentais em plântulas, que, quanto maior a disponibilidade de carboidratos não estruturais nas plantas,

maior será a tolerância dos indivíduos ao estresse hídrico. Mitchell et al. (2013) e Sevanto et al. (2014) acompanharam a mortalidade de árvores por meio das falhas hidráulicas decorrentes da escassez hídrica e concluíram que a medida que a disponibilidade de água era cessada contatava-se a depleção dos teores dos CNE's presentes na madeira, afirmando a teoria proposta por Nardini et al. (2011), que propõe que os carboidratos não estruturais são os responsáveis pela reparação do embolismo nos vasos xilemáticos.

Como a dinâmica destes carboidratos é dependente das variáveis ambientais pontuais, e há a translocação dos conteúdos destes CNE's pelos anéis de crescimento (HARTMANN; MCDOWELL; TRUMBORE, 2015), torna-se necessário conhecer o padrão de variação radial dos conteúdos de CNE's a fim de prever as dinâmicas que os carboidratos possuem e reafirmar as teorias pertinentes sobre o assunto.

As plantas possuem defesas peculiares para a sobrevivência sob ambientes estressantes, uma defesa genética que esses indivíduos possuem é a memória do estresse (THELLIER; LÜTTGE, 2012). Essa defesa é a sinalização gerada por estímulos ambientais que fazem com que as plantas ativem a informação para o controle daquele estresse, que normalmente se instalam por meio de mudanças epigenéticas ou por sinais químicos intracelulares, tais como fatores de transcrição do DNA ou na produção de proteínas (BRUCE et al., 2007 e HILKER et al., 2006). Pelo exposto, o objetivo do estudo é identificar o padrão de variação radial dos teores de carboidratos não estruturais presentes na madeira e relacioná-los com níveis de precipitação e temperatura nas regiões australianas de origem de coleta das sementes, conjecturando a possível ativação da memória do estresse.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material biológico

Foram avaliadas 16 origens das sementes coletadas em matrizes de polinização livre, localizadas na costa leste australianas, nos estados de Queensland e New South Wales. A Tabela 1 apresenta a identificação das origens, a altitude média do local, coordenadas geográficas, o somatório dos valores de precipitação de cada localidade e as temperaturas máxima, média e mínima.

O teste de procedência/progênie foi implantado em 6 de fevereiro de 2008, com 78 progênies de meio irmãos. O delineamento foi o de blocos casualizados, com três blocos e 16 plantas por unidade experimental. O espaçamento de plantio foi de 3 x 2 metros. O teste

experimental se localiza no município de Campo Belo, sul de Minas Gerais, com coordenadas geográficas: latitude 20°53'49"S e longitude 45°16'37"W. A altitude média é de 945 metros e a precipitação pluviométrica anual é de 1406 mm e temperatura média anual de 20,5°C, com máxima de 30°C e mínima de 10°C. Segundo Köppen o clima da região é classificado como Cwa: subtropical, chuvoso e mesotérmico. O solo é do tipo latossolo vermelho escuro.

Tabela 1. Identificação das localidades e parâmetros de precipitação e temperatura das origens australianas.

Origem	Região	Prec. (mm)	T. Média (°C)	T. Mínima (°C)	T. Máxima (°C)
1	Atherton	1037	27.4	21.1	33.0
2	Ubobo	851	25.9	18.4	34.2
3	Pascoe	1100	31.9	28.3	36.7
4	Allyn R.	1572	23.6	14.7	34.3
5	Shipton	1687	29.5	24.9	34.4
6	Blue M.	1100	31.9	28.3	36.7
7	Kangaroo	1450	19.7	11.2	30.1
8	Coledalle	769	23.1	15.5	31.3
9	Marshal	1203	20.9	15.9	26.1
10	Teviot	1287	23.9	14.4	34.5
11	Dorrigo	1160	16.1	14.5	26.3
12	Dairy F.	1037	23.9	14.4	34.5
13	Baldy	1007	27.4	21.1	33.0
14	Kenilw.	1288	27.2	18.7	35.6
15	Iron R.	2041	29.8	25.4	34.2
16	Eungella	2133	25.9	18.4	34.2

Prec. (mm): Precipitação média anual; T. Média: Temperatura média; T. Mínima: Temperatura mínima; T. Máxima: Temperatura máxima.

2.2 Amostragem

Para as análises foram selecionados 3 indivíduos de destaque de cada origem, totalizando 48 árvores. O critério utilizado na seleção foi com base nos valores genéticos aditivos individuais preditos pelo software estatístico SELEGEN – REML/BLUP referido na tese como Capítulo 2. As árvores foram marcadas e abatidas para retirada de um disco de 30mm de espessura próximo a base, 15cm do solo, para avaliação dos conteúdos de CNE's. As amostras foram identificadas e imersas em gelo para diminuição da atividade enzimática e evitar a oxidação até a chegada ao laboratório. As superfícies transversais dos discos foram lixadas com lixas de gramaturas 60, 120 e 180, ordenadamente, para melhor evidênciação e individualização dos anéis de crescimento.

2.3 Obtenção dos conteúdos de CNE's

O espectrômetro FTNIR Bruker (Optik GmbH, Ettlingen, Germany), modelo MPA, dotado de esfera de integração e interferômetro foi utilizado para coletar os espectros diretamente na face transversal de cada disco, posicionado em dois pontos opostos de cada anel de crescimento, por meio da fibra óptica na gama de 12.500 cm^{-1} a 3.500 cm^{-1} com uma resolução espectral de 8 cm^{-1} em modo de reflexão difusa. Cada espectro representou a média de 16 varreduras.

Os carbonos não estruturais foram quantificados pelos modelos desenvolvidos por Rosado et al. (2019), onde apresenta-se na Tabela 2 o teste realizado, o tratamento e o número de variáveis latentes.

Tabela 2. Testes para os CNE's e o número de variável latente para cada teste

CNE	Amido	Sacarose	Aç. Redutores	Açúcares Totais*	CNE totais**
Teste	PLS-R	PLS-R	PLS-R	PLS-R	PLS-R
Tratamento	1ª derivada	1ª derivada	1ª derivada	1ª derivada	1ª derivada
VL	10	12	11	11	10

PLS-R: regressão dos mínimos quadrados parciais; VL: variável latente.

*Somatório da sacarose e açúcares redutores

** Somatório dos açúcares totais e amido.

2.4 Obtenção das variáveis climáticas nos locais de origem

Os valores das normais climatológicas foram obtidos por meio de estações meteorológicas no banco de dados climáticos australianos (BOM – *Bureau of Methereology*) próximas aos locais de coleta das sementes. Como de cada localidade não havia uma estação meteorológica exata para as coordenadas de coleta das sementes, para o cálculo de precipitação e temperatura foi feita a interpolação pelo inverso da distância (SHEPARD, 1968), sendo utilizada a Equação 1, onde o valor da variável climática (X) interpolado é o quociente da soma dos inversos quadráticos das distâncias euclidianas (d_i) multiplicado pelo valor variável (X_i) pela soma quadrática do inverso das distâncias euclidianas (d_i).

$$X = \frac{\sum \frac{1}{d_i^2} X_i}{\sum \frac{1}{d_i^2}} \quad (1)$$

2.4.1 Índice Padronizado de Precipitação (IPP) e Magnitude de Seca (MS)

O índice padronizado de precipitação foi obtido pelo software SPI_SL6.exe, desenvolvido pelo centro climático do colorado (disponível em: <http://ulysses.atmos.colostate.edu/SPI.html>) com médias móveis no intervalo de 6, 12 e 24 meses das séries temporais das precipitações mensais acumuladas nos últimos 30 anos, para verificar qual média móvel se relacionaria melhor com as quantidades dos CNE's. Os valores de IPP são classificados segundo McKee et al. (1993) e são demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3: Classificação dos valores de IPP, categoria de precipitação e probabilidade de ocorrência.

Valores de IPP	Categoria	Probabilidade (%)
>2	Chuva extrema	2,3
1,5 a 1,99	Chuva severa	4,4
1,0 a 1,49	Chuva moderada	9,3
0,99 a 0,99	Normal	68,2
-1,0 a -1,49	Seca moderada	9,3
-1,5 a -1,99	Seca severa	4,4
<-2	Seca extrema	2,3

A magnitude de seca (MS) possui unidade em meses é obtida de acordo com a Equação 2, onde o valor de MS é a somatória dos IPP's do primeiro mês (j) de uma seca até o último mês ininterrupto de seca (x) para qualquer das escalas de tempo (i). A Tabela 4 demonstra os valores das magnitudes de seca para as médias móveis de 6, 12 e 24 meses.

$$MS = \sum_{j=1}^x SPI_{ij} \quad (2)$$

Tabela 4. Magnitudes de seca das médias móveis para as 16 localidades australianas

Origem	Região	MS 6	MS 12	MS 24
1	ATHERTON	-70.18	-85.16	-79.68
2	UBOBO	-73.29	-73.51	-68.92
3	PASCOE R.	-80.51	-93.48	-86.67
4	ALLYN R.	-78.49	-87.48	-82.46
5	SHIPTON F.	-85.75	-81.26	-97.35
6	BLUE M.	-80.51	-93.48	-86.67
7	KANGAROO	-98.35	-78.95	-89.52
8	COLEDALE	-73.93	-96.51	-85.50
9	MARSHALL	-74.72	-88.46	-72.84
10	TEVIOT B.	-62.44	-76.04	-84.17
11	DORRIGO	-74.55	-80.71	-84.93
12	DAIRY FLAT	-79.50	-76.07	-112.44
13	BALDY M.	-71.27	-78.99	-82.91
14	KENILW.	-67.90	-67.47	-92.88
15	IRON R.	-63.15	-85.06	-87.30
16	EUNGELLA	-62.08	-74.17	-63.65

MS 6: magnitude de seca com média móvel de 6 meses; MS 12: magnitude de seca com média móvel de 12 meses; MS 24: magnitude de seca com média móvel de 24 meses;

2.5 Estatística

Os resultados foram obtidos pelo software estatístico R. Para a determinação dos padrões de variação radial de cada origem em função dos CNE's foram feitas regressões e para a identificar a correlação entre as magnitudes de seca e temperaturas com os valores dos CNE's foram realizadas matrizes de correlações com avaliação da significância em um intervalo de confiança de 95%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Padrão de variação radial

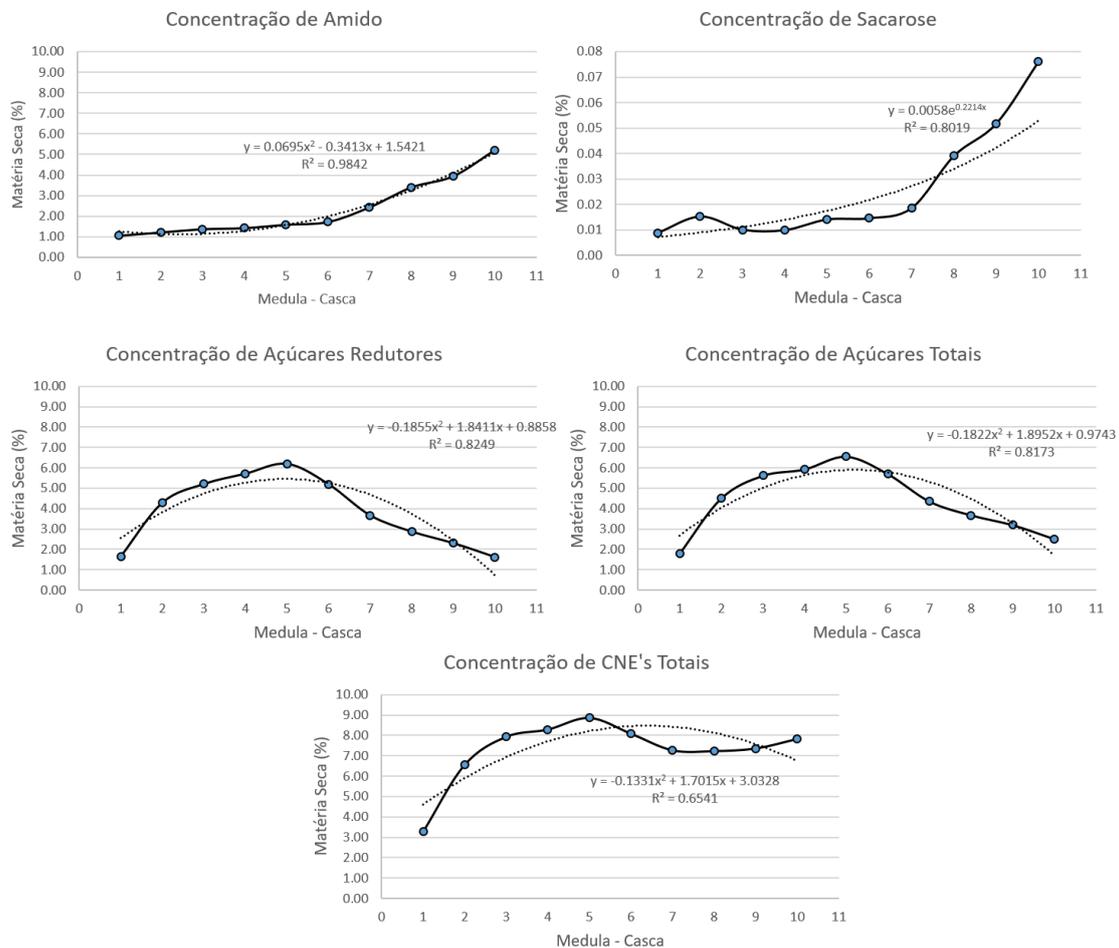
Foram feitas regressões para identificação dos padrões de variação radial dos carbonos não estruturais. Foram ajustadas regressões de polinômios de segunda ordem para o amido, açúcares redutores, açúcares totais e CNE's totais, o melhor ajuste para a sacarose foi uma potência conforme apresentado na Tabela 5. Os melhores ajustes foram para o amido $R^2= 0,98$ e para açúcares redutores e açúcares totais $R^2= 0,82$.

Tabela 5. Parâmetros das regressões na variação radial dos CNE's para a espécie *Toona ciliata*.

CNE	Regressão	Equação	R ²
Amido	Polinômio 2ª ordem	$-0.0695x^2 - 0.3413x + 1.5421$	0.98
Sacarose	Potência	$0.0058^{0.2214X}$	0.80
Açúcares redutores	Polinômio 2ª ordem	$-0.1855x^2 + 1.8411x + 0.8858$	0.82
Açúcares Totais	Polinômio 2ª ordem	$-0.1822x^2 + 1.8952x + 0.9743$	0.82
CNE Total	Polinômio 2ª ordem	$-0.1331x^2 + 1.7015x + 3.8858$	0.65

A Figura 1 apresenta o comportamento dos CNE's do primeiro ao último anel de crescimento. O amido apresenta comportamento de acréscimo no sentido medula-casca, fator associado ao processo de cernificação da madeira, que ao perder a função ativa na parte interior do fuste mobiliza o açúcar armazenado para as regiões periféricas para disponibilizá-lo à planta, visto que a permanência na região cernificada impede sua utilização para as demandas metabólicas vitais da planta (SPICER, 2005). Para a sacarose o comportamento foi semelhante, que apresentou estabilidade na concentração até o sexto anel e depois aumentou significativamente até o décimo anel, 0.01% de matéria seca para 0.08% de matéria seca. Os açúcares redutores tiveram padrão parabolóide, onde na porção central do tronco houve a maior concentração, modelo também apresentado pelos açúcares totais. Já os CNE's totais apresentaram-se sem um padrão definido, pois visto que é a somatória de todos os carboidratos não estruturais, ele é afetado por todos os padrões, justificando assim o menor R²= 0.65.

Figura 1. Variação radial na madeira pela perspectiva dos conteúdos dos CNE's para a espécie *Toona ciliata*.



Estudos com diversas espécies foram feitos para verificar o padrão de variação destes CNE's na madeira (BARBAROUX; BREDA, 2002; HOCH et al., 2003; NIAMKE et al., 2011). As respostas foram divergentes, os autores associaram os teores dos açúcares com a resposta intraespecífica, definindo assim que as espécies possuem comportamentos distintos. Entretanto, para o amido os resultados foram semelhantes ao encontrado nesse trabalho, onde houve aumento no conteúdo na porção mais externa do fuste próximo ao floema.

3.2 Correlação das variáveis ambientais das origens e os conteúdos dos CNE's

Foram geradas matrizes de correlação para cada CNE, onde todas as variáveis se corresponderiam uma a uma. Foram avaliadas a concentração média, mínima e máxima dos CNE's e foram feitas correlações com as magnitudes de secas totais das três médias móveis, e

também, a correlação com as temperaturas mínimas, médias e máximas. A Tabela 6 indica a correlação das variáveis ambientais com o amido.

Para o amido as melhores correlações com base nas magnitudes de seca foram encontradas para os teores mínimos, onde a média móvel de 24 meses obteve a maior correlação ($r = -0,30$). O valor negativo deixa explícita a relação de depleção conforme a magnitude de seca aumenta. Mitchell et al. (2013) avaliando a disponibilidade de água para os gêneros *Pinus* e *Eucalyptus* em resposta aos valores de amido, também encontraram a mesma tendência, em que a medida que a seca aumenta, há a diminuição da quantidade de amido disponível para as plantas. Já os resultados para temperatura não apresentaram padrão definido, onde a média das quantidades de amido tiveram melhores correlações com as temperaturas médias e mínimas, enquanto que o teor mínimo teve melhor correlação com a temperatura máxima. Não houve correlação significativa em nível de confiança de 95%.

Tabela 6. Correlações das magnitudes de seca, temperaturas e quantidade de amido.

Variáveis	Amido			Magnitudes de Seca			Temperatura		
	Méd.	Máx.	Mín.	MS 6	MS 12	MS 24	Média	Mínima	Máxima
-	1	0.34	0.72	0.25 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.18 ^{ns}
Amido Méd.	1	0.34	0.72	0.25 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.22 ^{ns}	0.18 ^{ns}
Amido Máx.	-	1	-0.10	-0.05 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	-0.12 ^{ns}	-0.09 ^{ns}
Amido Mín.	-	-	1	0.29 ^{ns}	0.11 ^{ns}	-0.30 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.23 ^{ns}
MS 6	-	-	-	1	0.26	0.42	0.12	0.08	0.12
MS 12	-	-	-	-	1	-0.01	-0.18	-0.36	0.08
MS 24	-	-	-	-	-	1	-0.10	-0.04	-0.21
Temp. Média	-	-	-	-	-	-	1	0.90	0.82
Temp. Mínima	-	-	-	-	-	-	-	1	0.57
Temp. Máxima	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Méd: média; Máx: máximo; Mín: mínimo; MS 6: Magnitude de seca de 6 meses; MS 12: magnitude de seca de 12 meses; MS 24: magnitude de seca de 24 meses; Temp: temperatura e; ^{ns}: não significativo à 0,05.

As correlações para sacarose estão apresentadas na Tabela 7, onde as melhores correlações foram para a variável temperatura. Os conteúdos médios tiveram as melhores correlações para todas as temperaturas (média, mínima e máxima). A melhor correlação foi para a temperatura mínima com a média da sacarose, $r = 0,78$. Já para as magnitudes de seca a melhor correlação foi para a média móvel de 12 meses com os conteúdos médios ($r = -0,33$) mantendo o padrão negativo para as correlações entre magnitude de seca. Não houve correlações com o teor mínimo, pois devido ao ajuste estatístico multivariado pela técnica do NIR alguns valores da sacarose, devido a sua baixa concentração, foram zero.

Tabela 7. Correlações das magnitudes de seca, temperaturas e quantidade de sacarose.

Variáveis	Sacarose			Magnitudes de Seca			Temperatura		
	Méd.	Máx.	Mín.	MS 6	MS 12	MS 24	Média	Mínima	Máxima
-									
Sacarose Méd.	1	0.92	NS	-0.08 ^{ns}	-0.33 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	0.73**	0.78**	0.52*
Sacarose Máx.	-	1	NS	-0.05 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	-0.17 ^{ns}	0.60*	0.67**	0.49 ^{ns}
Sacarose Mín.	-	-	1	NS	NS	NS	NS	NS	0.37 ^{ns}
MS 6	-	-	-	1	0.27	0.41	0.13	0.06	0.13
MS 12	-	-	-	-	1	-0.03	-0.18	-0.33	0.09
MS 24	-	-	-	-	-	1	-0.10	-0.03	-0.22
Temp. Média	-	-	-	-	-	-	1	0.91	0.82
Temp. Mínima	-	-	-	-	-	-	-	1	0.56
Temp. Máxima	-	-	-	-	-	-	-	-	1

NS: não significativo; Méd: média; Máx: máximo; Mín: mínimo; MS 6: Magnitude de seca de 6 meses; MS 12: magnitude de seca de 12 meses; MS 24: magnitude de seca de 24 meses; Temp: temperatura; ^{ns}: não significativo à 0,05; *significativo à 0,05 e; ** significativo à 0,01.

A Tabela 8 apresenta os resultados das correlações dos açúcares redutores com as magnitudes de seca e as temperaturas. Para as magnitudes de seca as melhores correlações foram com as quantidades máximas dos teores de açúcares redutores. Todas as correlações foram negativas, assumindo assim que a seca influencia inversamente no conteúdo. A média móvel que melhor se relacionou foi a de 24 meses ($r = -0,38$), enquanto que para a variável temperatura todos os conteúdos apresentam significância na correlação, sendo a temperatura mínima que apresentou o melhor desempenho ($r = 0,55$).

Tabela 8. Correlações das magnitudes de seca, temperaturas e quantidade de açúcares redutores.

Variáveis	Açúcares Red.			Magnitudes de Seca			Temperatura		
	Med.	Máx.	Mín.	MS 6	MS 12	MS 24	Média	Mínima	Máxima
-									
Aç. Red. Méd.	1	0.95	0.73	-0.25 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	-0.37 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.55*	0.22 ^{ns}
Aç. Red. Max.	-	1	0.62	-0.35 ^{ns}	-0.21 ^{ns}	-0.38 ^{ns}	0.38 ^{ns}	0.52*	0.19 ^{ns}
Aç. Red. Mín.	-	-	1	0.07 ^{ns}	-0.17 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	0.29 ^{ns}	0.44*	0.12 ^{ns}
MS 6	-	-	-	1	0.27	0.41	0.14	0.06	0.13
MS 12	-	-	-	-	1	-0.02	-0.18	-0.35	0.09
MS 24	-	-	-	-	-	1	-0.1	-0.03	-0.21
Temp. Média	-	-	-	-	-	-	1	0.91	0.81
Temp. Mínima	-	-	-	-	-	-	-	1	0.57
Temp. Máxima	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Méd: média; Máx: máximo; Mín: mínimo; MS 6: Magnitude de seca de 6 meses; MS 12: magnitude de seca de 12 meses; MS 24: magnitude de seca de 24 meses; Temp: temperatura; ^{ns}: não significativo à 0,05; e * significativo à 0,05.

Os açúcares totais (somatório dos açúcares redutores e sacarose), tiveram correlações mais significativas com as magnitudes de seca em seus teores máximos. A média móvel de 6 meses e 24 meses tiveram o mesmo resultado ($r = -0,35$) e ambas foram negativas. Para as temperaturas as melhores correlações foram para os teores médios dos açúcares totais, onde a melhor correlação foi para as temperaturas mínimas ($r = 0,53$) conforme apresentado na Tabela 9.

Tabela 9. Correlações das magnitudes de seca, temperaturas e quantidade de açúcares totais.

Variáveis	Açúcares Totais			Magnitudes de Seca			Temperatura		
	Méd.	Máx.	Mín.	MS 6	MS 12	MS 24	Média	Mínima	Máxima
Aç. Tot. Méd.	1	0.94	0.66	-0.29 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.34 ^{ns}	0.40 ^{ns}	0.53*	0.19 ^{ns}
Aç. Tot. Máx	-	1	0.60	-0.35 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	-0.35 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.50*	0.12 ^{ns}
Aç. Tot. Mín	-	-	1	0.08 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.30 ^{ns}	0.44 ^{ns}	0.08 ^{ns}
MS 6	-	-	-	1	0.26	0.42	0.11	0.05	0.12
MS 12	-	-	-	-	1	-0.03	-0.18	-0.35	0.07
MS 24	-	-	-	-	-	1	-0.1	-0.04	-0.2
Temp. Média	-	-	-	-	-	-	1	0.9	0.82
Temp. Mínima	-	-	-	-	-	-	-	1	0.57
Temp. Máxima	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Méd: média; Máx: máximo; Mín: mínimo; MS 6: Magnitude de seca de 6 meses; MS 12: magnitude de seca de 12 meses; MS 24: magnitude de seca de 24 meses; Temp: temperatura; ^{ns}: não significativo à 0,05; e * significativo à 0,05.

Na Tabela 10 apresenta-se os resultados dos CNE's totais, onde a melhor correlação para as magnitudes de seca foi com os teores máximos dos CNE's totais, sendo a maior correlação o ajuste da média móvel de 24 meses ($r = -0,47$). Para as temperaturas a quantidade dos CNE's totais que obteve melhor correlação foi o teor médio, onde a melhor correlação foi para a temperatura mínima ($r = 0,51$). Seguindo o padrão das correlações anteriores com os CNE's, positivo para temperatura e negativo para as magnitudes de seca.

Tabela 10. Correlações das magnitudes de seca, temperaturas e quantidade de CNE's totais.

Variáveis	CNE's totais			Precipitação			Temperatura		
	Méd.	Máx.	Mín.	MS 6	MS 12	MS 24	Méd	Mín	Máx
CNE's totais Méd.	1	0.93	0.7	-0.34 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.38 ^{ns}	0.35 ^{ns}	0.51*	0.17 ^{ns}
CNE's totais Máx.	-	1	0.56	-0.44 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	-0.47 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.47 ^{ns}	0.09 ^{ns}
CNE's totais Mín.	-	-	1	0.03 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.35 ^{ns}	0.50*	0.16 ^{ns}
MS 6	-	-	-	1	0.26	0.41	0.13	0.07	0.12
MS 12	-	-	-	-	1	-0.02	-0.18	-0.36	0.07
MS 24	-	-	-	-	-	1	-0.09	-0.04	-0.21
Temp. Média	-	-	-	-	-	-	1	0.90	0.82
Temp. Mínima	-	-	-	-	-	-	-	1	0.57
Temp. Máxima	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Méd: média; Máx: máximo; Mín: mínimo; MS 6: Magnitude de seca de 6 meses; MS 12: magnitude de seca de 12 meses; MS 24: magnitude de seca de 24 meses; Temp: temperatura; ^{ns}: não significativo à 0,05; e * significativo à 0,05.

As Tabelas 11 e 12 apresentam os resultados gerais da influência das temperaturas e magnitudes de seca sobre os conteúdos dos carboidratos não estruturais. Para todos os CNE's, exceto o amido, as temperaturas mínimas nas localidades de origem possuem maior correlação com as quantidades médias, sendo a maior correlação para a sacarose, seguida pelos açúcares redutores, açúcares totais, CNE's totais e amido. Para as magnitudes de seca não houve padrão, visto que todas as magnitudes de seca e as quantidades descritivas dos CNE's alternaram-se como melhores correlações. A média móvel de 24 meses teve maior correlação em 4 dos 5 ajustes, podendo assimilar que para plantas perenes uma amplitude maior na variação das médias móveis tende a representar melhor o histórico da seca em determinado local. Verificou-se também que todas as correlações foram maiores para a temperatura, exceto para o amido, que obteve uma correlação maior para a magnitude de seca. Também se verificou que as correlações foram todas negativas, identificando assim que quanto maior a magnitude de seca menor o conteúdo dos CNE's.

Tabela 11. Correlação dos CNE's e temperatura.

CNE's	Temperatura	Quantidade CNE	Correlação
Amido	Média	Média	0.25
Sacarose	Mínima	Média	0.78
Açúcares redutores	Mínima	Média	0.55
Açúcares totais	Mínima	Média	0.53
CNE's totais	Mínima	Média	0.51

Tabela 12. Correlação dos CNE's e magnitudes de seca.

CNE's	Magnitudes de Seca	Quantidade CNE	Média Móvel	Correlação
Amido	Mínima	Mínima	24 meses	-0.30
Sacarose	Média	Média	12 meses	-0.33
Açúcares Red.	Máxima	Máxima	24 meses	-0.38
Açúcares totais	Máxima	Máxima	6e24 meses	-0.35
CNE's totais	Máxima	Máxima	24 meses	-0.47

Constatou-se pelos resultados a relação significativa entre os conteúdos dos CNE's e as variáveis ambientais das localidades de origem das sementes. A magnitude das correlações pode estar associada ao sítio experimental na cidade de Campo Belo, visto que a região não sofre por uma estiagem severa e nem por temperaturas extremas. Se o experimento estivesse situado em localidades de estresses climáticos mais acentuados provavelmente as magnitudes das correlações poderiam ser mais expressivas. Também há de se considerar a época de coleta dos materiais, as amostras foram coletadas no mês de julho, período de inverno, onde a atividade cambial tende a cessar e os CNE's são realocados para as atividades metabólicas, sendo assim consumidos para as demandas vitais da planta e produção do lenho tardio do xilema secundário.

3.3 Memória do estresse

A Tabela 13 apresenta os valores máximos em percentagem de matéria seca dos CNE's avaliados e as precipitações médias anuais de cada localidade em ordem crescente. O motivo da ordenação é indicar a partir da precipitação média anual quais progênies estariam sob influência do estresse hídrico. A precipitação média anual de Campo Belo é de 1250 mm, portanto estariam sob estresse hídrico as progênies 10, 14, 7, 4, 5, 15 e 16.

Tabela 13. Teores máximos dos CNE's de cada origem e diferença da precipitação da origem e Campo Belo.

Origem	Amido	Sacarose	Açúcares Red	Açúcares Totais	CNE's Totais	Dif. Precip.
8	5.19	0.02	6.38	6.64	8.83	481
2	5.47	0.07	5.52	6.01	7.98	399
13	5.84	0.09	2.66	3.35	8.77	243
1	5.84	0.11	3.32	3.96	7.50	213
12	5.09	0.05	8.16	8.32	11.26	213
3	5.55	0.21	10.52	10.57	12.94	150
6	5.06	0.13	10.10	11.58	12.76	150
11	6.44	0.08	6.61	8.33	11.32	90
9	4.73	0.04	8.39	9.04	11.63	47
10	4.60	0.04	3.15	3.48	7.45	-37
14	5.94	0.14	8.33	9.17	11.27	-38
7	4.70	0.05	6.33	6.85	10.11	-200
4	6.31	0.08	3.05	3.40	8.19	-322
5	4.30	0.06	12.16	12.99	16.72	-437
15	4.31	0.10	8.64	8.29	10.63	-791
16	4.07	0.03	6.57	6.99	9.31	-883

Açúcares Red: açúcares redutores; Dif. Precip: Diferença da precipitação de Campo Belo – precipitação da origem.

Pelo exposto na tabela acima descrita, observou-se que as origens que mais sofreram com a adaptação ao ambiente (5, 15 e 16) tiveram as menores concentrações de amido, reafirmando as referências citadas que justificam tal comportamento, pois a alocação deste carboidrato não estrutural é direcionado para as demandas metabólicas da planta. As origens 7 e 10 tiveram comportamento semelhantes, porém os teores de amido foram ligeiramente maiores do que as origens mais estressadas, enquanto que as origens 4 e 14 tiveram teores acima da média.

Pelo resultado do inventário florestal realizado no sítio experimental e os parâmetros genéticos realizados no capítulo 1, as progênies 5, 15 e 16 estão entre as 6 melhores na seleção, sendo a progênie 15 a melhor dentre todas. Esses resultados sugerem que apesar das condições adversas ao ambiente natural de ocorrência, as progênies dessas origens serão matrizes que possuem a tendência de produzirem frutos com a memória transgeracional do estresse e crescimento satisfatório para plantios clonais comerciais.

4 CONCLUSÕES

Os padrões de variação radial da quantidade de amido e sacarose na madeira tiveram comportamento crescente no sentido medula casca.

A quantidade dos açúcares redutores, açúcares totais e CNE's totais tiveram de maiores teores na região central da madeira no sentido medula-casca.

Os teores máximos dos CNE's avaliados tiveram maior relação com as magnitudes de seca.

A temperatura mínima dos locais de origem teve a maior correlação com as quantidades média dos CNE's.

Para a variável temperatura a melhor correlação foi de temperatura mínima e sacarose já para a magnitude de seca a melhor correlação foi entre os valores máximos das magnitudes de seca e CNE's totais.

As procedências 5, 15 e 16 apresentaram os menores conteúdos de amido e as maiores variações de estresse em precipitação. Sugerindo assim que essas procedências serão mais resilientes a seca e que a memória do estresse transgeracional seja ativa nas sementes produzidas por essas procedências.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBAROUX, C.; BREDA, N.; DUFRENE, E. 2003. Distribution of above-ground and belowground carbohydrate reserves in adult trees of two contrasting broad-leaved species (*Quercus petraea* and *Fagus sylvatica*). **New Phytologist** 157, 605–615.
- BRACANNOT, P.; HARRISON, S. P.; KAGEYAMA, M.; BARTLEIN, P. J.; MASSON-DELMOTTE, V.; ABE-OUCHI, A.; OTTO-BLIESNER, B.; ZHAO, Y. Evaluation of climate models using paleoclimatic data. **Nature climate change**. v. 1456, n. 2, p. 417-424, 2012.
- BREDA, N.; HUC, R.; GRANIER, A.; DREYER, E. (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. **Ann For Sci** 63:625–644.
- BRUCE, T. J. A.; MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; PICKETT, J. A. Stressfull “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, p. 603-608, 2007.
- DIETZE, M.C.; SALA, A.; CARBONE, M.S.; CZIMCZIK, C.I.; MANTOOTH, J.A.; RICHARDSON, A.D.; VARGAS, R. Nonstructural carbon in woody plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 65, 667–687, 2014.
- HILKER, M.; SCHWACHTJE, J.; BAIER, M.; BALAZADEH, S.; AURLE, I. B.; GEISELHARDT, S.; HINCHA, D. K.; KUNZE, R.; ROEBER, R.; RILLIG, M. C.; ROLFF, J.; ROMEIS, T.; SCHMULLING, T.; STEPPUHN, A.; VAN DONGEN, L.; WHITCOMB, S. J.; WURST, S.; ZUTHER, E.; KOPKA, J. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews**, v. 91, p. 1118- 1133, 2016.
- HOCH, G.; KÖRNER, C. 2003. The carbon charging of pines at the climatic treeline: a global comparison. **Oecologia** 135, 10–21.
- HOCH, G.; RICHTER, A.; KÖRNER, C. Non-structural carbon compounds in temperate forest trees. **Plant Cell Environ.** 2003; 26:1067–1081.
- HOCH, G. (2005) Fruit-bearing branchlets are carbon autonomous in mature broad-leaved temperate forest trees. **Plant Cell Environ** 28:651–659.
- FAJARDO, A.; PIPER, F.I.; HOCH, G. (2013). Similar variation in carbon storage between deciduous and evergreen treeline species across elevational gradients. **Ann Bot** 112:623–631.
- GRUBER, A.; PIRKEBNER, D.; FLORIAN, C.; OBERHUBER, W. (2012) No evidence for depletion of carbohydrate pools in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) under drought stress. **Plant Biol** 14:142–148.
- HARTMANN, H.; MCDOWELL, N. G.; TRUMBORE, S. (2015). Allocation to carbon storage pools in norway spruce saplings under drought and low Co₂. **Tree Physiol.** 35, 243–252. doi: 10.1093/treephys/tpv019.
- KÖPPEN, W. **Climatologia: con um estúdio de los climas de la tierra**. México: Fondo de Cultura Economica, 1948. 478 p.

- KÖRNER, C. 2003. Carbon limitation in trees. *J. Ecol.* 91:4–17.
- MCDOWELL, N. G.; BEERLING, D.J.; BRESHEARS, D.D.; FISHER, R.A.; RAFFA, K.F.; STITT, M. (2011) The interdependence of mechanisms underlying climate-driven vegetation mortality. *Trends Ecol Evol* 26:523–532. doi:10.1016/j.tree.2011.06.003.
- MCKEE, T. B.; DOESKEN, N. J.; KLEIST, J. The relationship of drought frequency and duration to times scale. In: CONFERENCE ON APPLIED CLIMATOLOGY, 8, 1993, Boston. *Anais...* Boston, p.179–184, 1993.
- MITCHELL, P. J. *et al.* Drought response strategies define the relative contributions of hydraulic dysfunction and carbohydrate depletion during tree mortality. *New Phytol.* 197, 862–872 (2013).
- NARDINI, A.; GULLO, M. A. L.; SALLEO, S. Refilling embolized xylem conduits: Is it a matter of phloem unloading? *Plant Science*, Ireland, v. 180, n. 4, p. 604–611, 2011.
- NIAMKÉ, F.B.; AMUSANT, N.; CHARPENTIER, J.P.; CHAIX, G.; BAISSAC, Y.; BOUTAHAR, N.; ADIMA, A.A.; KATI-COULIBALY, S.; JAY-ALLEMAND, C. Relationships between biochemical attributes (non-structural carbohydrates and phenolics) and natural durability against fungi in dry teak wood (*Tectona grandis* L. f.) *Annals of Forest Science*. 2011; 68:201–211.
- O'BRIEN, M.; LEUZINGER, S.; PHILIPSON, C. D.; TAY, J.; HECTOR, A. Drought survival of tropical tree seedlings enhanced by non-structural carbohydrate levels. *Nature Clim. Change* 4, 710–714 (2014).
- PALACIO, S.; HESTER, A.J.; MAESTRO, M.; MILLARD, P. (2008) Browsed *Betula pubescens* trees are not carbon-limited. *Funct Ecol* 22: 808–815.
- RAPP, R. A.; WENDEL, J. F. Epigenetics and plant evolution. *New Phytology*. v. 168, p. 81-91, 2005.
- ROSADO, L.R. *et al.* NIRS: RAPID AND ACCURATE ANALYTICAL TOOL FOR PREDICTION OF NON-STRUCTURAL CARBON IN WOOD. *CERNE*, [S.l.], v. 25, n. 1, p. 84-92, apr. 2019. ISSN 2317-6342. Available at: <<http://www.cerne.ufla.br/site/index.php/CERNE/article/view/2016>>. Date accessed: 14 may 2019.
- SECCHI, F.; ZWIENIECKI, M. A. Sensing embolism in xylem vessels: the role of sucrose as a trigger for refilling. *Plant Cell Environ.* 34, 514–524 (2011).
- SEVANTO, S.; MCDOWELL, N. G.; DICKMAN, L. T.; PANGLE, R.; POCKMAN, W. T. How do trees die? A test of the hydraulic failure and carbon starvation hypotheses. *Plant Cell Environ.* 37, 153–161 (2014).
- SHEPARD, D. 1968: **A two-dimensional interpolation function for irregularly spaced data.** 23rd Natl Conf of American Computing Machinery, Princeton, NJ.

SPICER, R. 2005. Senescence in secondary xylem: heartwood formation as an active development programme. In: Holbrook N, Zwieniecki M, eds. *Vascular transport in plants*. Burlington, MA, USA: Elsevier Academic Press, 457–475.

THELLIER, M.; LÜTTGE, U., 2012. Plant memory: a tentative model. **Plant Bio.** 15, 1-12.

YOSHIMURA, K.; SAIKI, S.T.; YAZAKI, K.; OGASA, M.Y.; SHIRAI, M.; NAKANO, T. (2016). The dynamics of carbon stored in xylem sapwood to drought-induced hydraulic stress in mature trees. *Sci. Rep.*, 6, 24513.