



LIDIANE COSTA LIMA

**VARIAÇÃO DO ÂNGULO MICROFIBRILAR E
DO CONTEÚDO DE LIGNINA NA PAREDE
CELULAR DAS FIBRAS DA MADEIRA DE
CLONES DE *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus
urophylla***

LAVRAS – MG

2015

LIDIANE COSTA LIMA

**VARIAÇÃO DO ÂNGULO MICROFIBRILAR E DO CONTEÚDO DE
LIGNINA NA PAREDE CELULAR DAS FIBRAS DA MADEIRA DE
CLONES DE *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla***

Dissertação 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 Madeira como matéria-prima, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. José Tarcísio Lima

Coorientadores

Dr. José Reinaldo Moreira da Silva

Dr. Eduardo Alves

LAVRAS - MG

2015

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

Lima, Lidiane Costa.

Variação do ângulo microfibrilar e do conteúdo de lignina na
parede celular das fibras da madeira de clones de *Eucalyptus grandis*
× *Eucalyptus urophylla* / Lidiane Costa Lima. – Lavras : UFLA,
2015.

51 p. : il.

Dissertação(mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador: José Tarcísio Lima.

Bibliografia.

1. Ângulo microfibrilar. 2. Parede celular. 3. *Eucalyptus*. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

LIDIANE COSTA LIMA

**VARIAÇÃO DO ÂNGULO MICROFIBRILAR E DO CONTEÚDO DE
LIGNINA NA PAREDE CELULAR DAS FIBRAS DA MADEIRA DE
CLONES DE *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla***

Dissertação 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 Madeira como matéria-prima, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de fevereiro de 2015.

Dra. Graziela Baptista Vidaurre UFES
Dra. Selma Lopes Goulart UFLA

Dr. José Tarcísio Lima
Orientador

Dr. José Reinaldo Moreira da Silva
Dr. Eduardo Alves
Coorientadores

LAVRAS – MG

2015

Aos meus amados pais e irmã

Aos queridos Bruno e Anna

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, pela oportunidade de realização desse trabalho.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e à empresa CENIBRA, pela concessão do material para a realização do experimento.

Ao meu orientador, professor Dr. José Tarcísio, bem como aos coorientadores Dr. Eduardo Alves e Dr. José Reinaldo, pelo conhecimento transmitido, pelo apoio e auxílio.

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Ciência e Tecnologia da Madeira, pelo companheirismo e otimismo, em especial Milene, Selma, Elias e Cassiana, sem os quais eu não poderia ter realizado este trabalho.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da UFLA e à Elisa e Aline, também imprescindíveis na realização do experimento. Ao Centro de Microscopia da UFMG e ao Kinulpe, pelo auxílio e profissionalismo.

A Ana Carolina, Lisiane, Gisele, Tatiane e Pigozzo, minha família em Lavras, e aos amigos de todas as horas Bruno, Anna, Eduardo, Vladimir, Áthila, Matheus, Luiz Otávio, Marcos, Lucas Darakjan, Lucas Bragança, Anna Paula, Rafael, Robson, Felipe e Pedro, pelas risadas e lembranças que dividimos ao longo dos anos, que estão entre as melhores coisas que Lavras me proporcionou.

Aos meus pais, Benedito e Graça, e à minha irmã Dayane, pelo amor e fé incondicionais, por acreditarem quando eu mesma duvidei e por nunca me deixarem sozinha, mesmo quando não era possível estar ao meu lado. A toda a minha família, por seu carinho e apoio que não conhecem distâncias.

RESUMO

A madeira de *Eucalyptus* cultivada no Brasil, para a produção de celulose, tem sido avaliada em termos de várias de suas propriedades. A partir do ano 2000, iniciaram-se vários estudos para a avaliação do ângulo microfibrilar, tendo em vista a sua importância para explicar outras propriedades, tanto da madeira como da polpa. Entretanto, ainda não existem relatos sobre a variação do ângulo microfibrilar nas diferentes camadas - S1, S2 e S3 - da parede celular secundária dessas madeiras. Assim, objetivou-se neste trabalho, investigar variação do ângulo microfibrilar e do conteúdo de lignina na parede celular das fibras da madeira de clones de três híbridos de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*, associando essas informações com as características anatômicas e propriedades físico-mecânicas da madeira. Para isso, foram amostradas três árvores eretas de três clones plantados na região do vale do rio Doce. Foram avaliadas a morfologia das fibras, a densidade básica, instabilidade dimensional, compressão paralela às fibras, conteúdo de lignina e ângulo microfibrilar (microscopia de luz polarizada) de amostras coletadas em três posições no sentido medula - casca dos troncos. Dessas mesmas posições também foram preparados cortes ultrafinos para a observação no microscópio eletrônico de transmissão e cortes finos em micrótomo para a observação da distribuição da lignina em microscópio de fluorescência. Dos resultados, foi possível concluir que i) As características anatômicas, químicas, físicas e mecânicas avaliadas, em geral, apresentaram magnitudes compatíveis com resultados reportados na literatura; ii) Não houve tendência radial comum para os três clones em relação ao teor de lignina; iii) Maiores intensidades de brilho foram observadas nos cantos das células e na lamela média, indicando maior teor de lignina, nessas regiões, em relação às demais camadas da parede celular; iv) O ângulo microfibrilar médio das madeiras dos clones variou entre 7,6° e 8,3°, sendo que, em todos os clones, observou-se uma tendência de decréscimo do AMF, no sentido medula - casca; v) As relações do AMF com as outras propriedades da madeira mostraram-se mais fortes para densidade da madeira, contração tangencial e propriedades mecânicas; vi) Observações com o microscópio eletrônico de transmissão permitiram diferenciar a camada S2 das demais camadas da parede celular. Os ângulos microfibrilares variaram dentro da mesma camada da parede celular, seja S1, S2 ou S3. A região interna do clone CNB007 apresentou AMF da camada S2 igual a 6,7° e na camada de transição S1-S2 49,4°. A madeira do centro do tronco do clone CNB010 apresentou AMF igual a 74,5° na camada S3, na camada S2 3,0° e na camada de transição S1-S2 6,0°.

Palavras-chave: Ângulo microfibrilar. Parede celular. *Eucalyptus*. Variação.

ABSTRACT

Various properties of wood of *Eucalyptus* grown in Brazil for cellulose production have been evaluated. Besides, various studies were performed from the year 2000 addressing about the importance of microfibril angle to describe another properties of both wood and pulp. However, there are no reports about the microfibril angle variation in different layers of the secondary cell wall in those woods so far. In this study, we aimed to investigate the microfibril angle variation, as well as the lignin content in the cell wall of fibers of three wood clones of *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*. These parameters were associated with anatomical features, and physical and mechanical properties. Samples of three erect trees per clone of those planted in Vale do Rio Doce were collected in three points established from the medulla to trunk bark. We evaluated fiber morphology, basic density, dimensional instability, parallel compression for fibers, lignin content, and microfibril angle. For the same collection points, we also prepared ultra-thin sections for transmission electron microscopy. In addition, fine sections obtained on microtome were used for observation of lignin distribution across the cell wall, using fluorescence microscopy. According to results we could conclude the following: i) anatomical, chemical, physical, and mechanical features ranged according to reports found in the literature; ii) regarding the content of lignin, there was no common radial trend for both three clones; iii) higher brightness intensities were found in the corner of cells and middle lamella, indicating greater content of lignin in these regions when compared to that found in other layers; iv) the average microfibril angle ranged from 7.6° to 8.3°, and there was a tendency for decrease of MFA from the medulla to bark for all clones; v) the relation between MFA with another wood properties was found to be stronger for wood density, tangential contraction and mechanical properties; and vi) the transmission electron microscopy allowed to differentiate the S2 layer from the others. The microfibril angles ranged within the same layer, either for S1, S2 or S3. The MFA of S2 layer was equal to 6.7°; and the transition layer from S1 to S2 was equal to 49.4° in the inner position of the CNB007 clone. The middle wood of trunk of the CNB010 clone showed MFA equal to 74.5° in the S3 layer, 3.0° in the S2 layer, and the transition layer from S1 to S2 equal to 6.0°.

Key-words: Microfibril angle. Cell wall. Eucalyptus. Variation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVO	11
3	REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1	Ângulo microfibrilar (AMF)	12
3.1.1	Variação do ângulo das microfibrilas	14
3.1.2	Relação entre ângulo microfibrilar e propriedades da madeira	15
3.1.3	Métodos de medição do ângulo microfibrilar	16
3.2	Lignina	18
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	Coleta do material e confecção de amostras	21
4.2	Determinação do AMF	24
4.2.1	Microscopia de luz polarizada	24
4.2.2	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	24
4.3	Testes físicos	25
4.4	Análise anatômica	25
4.5	Teste mecânico	26
4.6	Determinação do conteúdo de lignina	26
4.7	Conteúdo de lignina via microscopia de fluorescência	27
4.8	Análise dos dados	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1	Ângulo microfibrilar médio via microscopia de luz polarizada	28
5.2	Características físicas da madeira	29
5.3	Dimensões das fibras	32
5.4	Propriedades mecânicas	34
5.5	Conteúdo de lignina	36
5.6	Distribuição de lignina através da parede celular	37
5.7	Ângulo microfibrilar através da parede celular	39
6	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A madeira é uma das matérias-primas renováveis mais empregadas no mundo. Por ser considerada um material heterogêneo e anisotrópico, o conhecimento de suas propriedades é necessário para subsidiar sua melhor aplicação.

Com o decréscimo da disponibilidade de árvores adultas de grandes diâmetros provenientes de florestas nativas tornou-se necessário o uso de madeiras de espécies de rápido crescimento originadas em plantios comerciais de ciclo curto, como é o caso das espécies do gênero *Eucalyptus*.

O comportamento da madeira é influenciado por fatores do meio, como temperatura, umidade relativa e quantidade de água disponível. As propriedades são influenciadas por sua constituição química e anatômica. Nesse aspecto, características como o teor de lignina, a morfologia das fibras e dos elementos de vaso, a proporção em que os diversos tecidos ocorrem e a organização e distribuição desses tecidos na madeira exercem papel fundamental na definição de suas propriedades.

Vários trabalhos têm mostrado que o ângulo das microfibrilas da parede celular das fibras é uma das características de grande importância para a definição de algumas propriedades como a retratibilidade, a resistência e a rigidez da madeira, assim como resistência à tração e módulo de elasticidade das fibras de celulose. No entanto, faz-se necessário um estudo não apenas do ângulo médio, como também da angulação em cada uma das camadas da parede celular, o que permitiria definir que camada da parede tem maior influência sobre determinada propriedade. Trabalhos que relatem essa variação são raramente encontrados na literatura especializada, não tendo sido encontrada qualquer publicação sobre esse aspecto com madeiras plantadas no Brasil.

A distribuição da lignina na parede celular é afetada pela espécie, pelo tipo de célula, lenho inicial e tardio, distância da medula, ocorrência de lenho de reação, entre outros fatores. Essa distribuição tem influência sobre as propriedades físicas, mecânicas e características anatômicas da madeira e são de grande interesse para indústrias de papel e celulose e carvão, além da importância na conformação física do vegetal, impermeabilização dos vasos condutores e defesa contra a herbivoria.

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a variação do ângulo microfibrilar e da distribuição da lignina na parede celular das fibras, além do conteúdo de lignina na madeira de clones de três híbridos de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla*, associando essas informações com as características anatômicas e propriedades físico-mecânicas da madeira.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Ângulo microfibrilar (AMF)

Nas paredes primária e secundária das células das plantas, encontram-se suas unidades fundamentais, as microfibrilas celulósicas, embebidas em uma matriz de polissacarídeos, tais como: pectina, hemiceluloses e lignina (HARRIS, 2006).

Na parede primária, a orientação das microfibrilas é geralmente dispersa. A parede secundária das células do xilema apresenta três camadas: as microfibrilas das camadas S1 e S3 são orientadas transversalmente, já na S2, a camada mais espessa, as microfibrilas encontram-se orientadas axialmente (WARDROP; PRESTON, 1947). A parede secundária pode apresentar camadas alternadas com diferentes orientações das microfibrilas, o que é conhecido como arranjo helicoidal (REIS; VIAN, 2004). Um esquema da conformação da parede celular é apresentado na Figura 1.

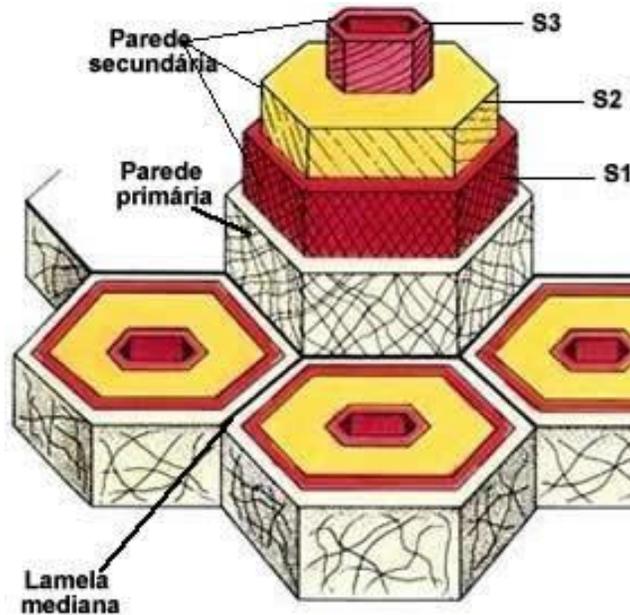


Figura 1 Representação esquemática de uma célula vegetal

Fonte: Adaptado de Raven et al. (1999).

A estrutura cruzada das microfibrilas proporciona à madeira uma alta rigidez axial, além de uma alta resistência ao colapso e à ruptura, permitindo que a planta adote um hábito de crescimento ereto e faça uma condução eficiente da água da raiz até o topo (DONALDSON, 2008).

A orientação e organização das microfibrilas de celulose contribui com as propriedades físicas da madeira serrada e de fibras processadas. A camada S2 é, geralmente, mais espessa que as outras camadas, podendo dominar as propriedades físicas da parede celular (DONALDSON, 2008), o módulo de elasticidade longitudinal (MOE_L), por exemplo, é dependente do AMF da camada S2 (CAVE, 1968). Embora menos espessas, as camadas S1 e S3 têm um papel crucial no reforço da célula contra deformação por forças de tensão da água, dureza lateral e resistência ao esmagamento da madeira (BOOKER, 1993).

Nas folhosas, os ângulos médios das microfibrilas apresentam variações de 5° a 20° entre espécies e dentro de uma mesma árvore (BOYD, 1980).

3.1.1 Variação do ângulo das microfibrilas

Radialmente, observa-se uma redução do ângulo microfibrilar (AMF) no sentido medula-casca, sendo que, na medula de folhosas, são, geralmente, encontrados valores entre 15° e 20° (DONALDSON, 2008). Axialmente, o AMF diminui conforme se avança em direção ao topo da árvore. Em *Eucalyptus nitens* o AMF atinge seu mínimo entre 30 e 50% da altura total do vegetal, voltando a aumentar em direção ao topo da árvore (EVANS; STRINGER; KIBBLEWHITE, 2000).

Entre árvores, mesmo vizinhas, observa-se significativa variação no AMF, sendo as diferenças mais aparentes em madeira juvenil (DONALDSON, 2008).

As determinações do AMF são, geralmente, realizadas na parede radial da fibra, no entanto, estudos comparativos mostraram que as diferenças entre determinações nas paredes radial e tangencial são variáveis entre árvores e dependentes da espécie (DONALDSON, 2008).

Usando microscopia eletrônica de transmissão em amostras de *Pinus radiata*, Donaldson e Xu (2005) foram capazes de medir a variação contínua da orientação das microfibrilas do lume à parede primária, mostrando uma zona de transição relativamente abrupta entre S2 e S3, mas uma transição mais gradual entre S1 e S2.

O AMF está relacionado com o direcionamento das tensões de crescimento, particularmente em lenho de reação. O lenho de compressão geralmente tem um alto AMF e, portanto, pode resistir à alta tensão de

compressão, enquanto o lenho de tração tem um baixo AMF, podendo resistir a uma elevada tensão de tração (BOYD, 1980).

No lenho de compressão, o AMF é geralmente maior em relação ao lenho oposto, enquanto na camada gelatinosa (camada G), formada em folhosas, o AMF é geralmente pequeno. No lenho de tração da espécie tropical *Laetia procera* (Poepp.) Eichl., a parede secundária é composta por várias lamelas distintas, com camadas alternando AMFs altos e baixos em associação com variação no grau de lignificação, sendo que ângulos baixos são associados a baixos níveis de lignificação (RUELLE et al., 2007).

Estudos com diversas espécies mostram que sítio, tratos silviculturais como fertilização e desbaste, latitude, temperatura anual, pluviosidade, geadas e irrigação apresentam influência variável sobre o AMF, o que pode ser associado à taxa de crescimento do vegetal (DONALDSON, 2008).

Estudos correlacionando dimensões celulares, como espessura da parede, diâmetro do lume e comprimento da fibra com o AMF encontraram resultados variáveis. O AMF frequentemente varia entre lenho inicial e lenho tardio, assim como variam com a espessura da parede e com o diâmetro do lume, porém os estudos não são conclusivos a respeito da existência ou não de relação (DONALDSON, 2008).

3.1.2 Relação entre ângulo microfibrilar e propriedades da madeira

O AMF mostra uma relação variável com a densidade da madeira. A correlação entre AMF e densidade se mostra presente em alguns anéis de crescimento consecutivos, mas não se mantém entre árvores da mesma espécie (EVANS; STRINGER; KIBBLEWHITE, 2000). Como o AMF varia entre lenho inicial e tardio e a densidade é influenciada pela quantidade dos mesmos na

madeira, a relação entre AMF e densidade pode ser espúria (DONALDSON, 2008).

O AMF na camada S2 é considerado um indicativo da qualidade da madeira e das fibras (BENDTSEN; SENFT, 1986). A relação entre AMF e MOE_L é repetidamente relatada na literatura (CAVE, 1968; CAVE; WALKER, 1994). O AMF mostra uma boa correlação com as propriedades mecânicas das fibras individuais, sendo que as fibras com maiores AMFs também mostram aumento da extensibilidade, que é a resistência que um material apresenta ao ser estirado sem se romper (PAGE et al., 1972).

AMF é um dos parâmetros que afetam contração e a anisotropia. Em madeiras de compressão, o aumento do AMF mostra um aumento correspondente na contração longitudinal (HARRIS; MEYLAN, 1965). Madeiras com AMF baixo geralmente apresentam alta contração tangencial, enquanto que aquelas com AMF alto apresentam alta contração longitudinal.

As propriedades do papel são função das suas propriedades como um todo e das propriedades das fibras individuais que o compõem (HORN, 1974). O AMF está relacionado com a resistência à tração e com módulo de elasticidade de fibras de celulose, sendo que pequenos valores de AMF levam a fibras mais fortes e mais rígidas (DOWNES et al., 2003).

3.1.3 Métodos de medição do ângulo microfibrilar

As principais técnicas de medição do ângulo microfibrilar são de dois tipos: medição individual de fibras, por meio de microscopia, ou medição em amostras de madeira, utilizando difração de raios-X.

Técnicas baseadas em microscopia são divididas entre aquelas que dependem das propriedades ópticas da celulose cristalina, utilizando variações da técnica de luz polarizada e aqueles que, direta ou indiretamente, permitem

visualizar a orientação das próprias microfibrilas. Tais métodos incluem precipitação iodo, microscopia de fluorescência, microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), entre outros (DONALDSON, 2008). Já, a técnica de difração de raios-X também é utilizada para medições automatizadas do AMF da camada S2 (EVANS; STUART; VAN DER TOUW, 1996).

A microscopia de luz polarizada parte do princípio de que, como a celulose possui regiões cristalinas e as microfibrilas dentro da parede secundária são altamente alinhadas (MÜLLER et al., 1998), seções finas de madeira são birrefringentes, quando observadas entre dois filtros polarizadores cruzados (DONALDSON, 2008). A observação de uma única parede em fibras individuais é possível com o auxílio de um micrótomo, para obter cortes mais finos, e maceração, para dissolução da lamela média.

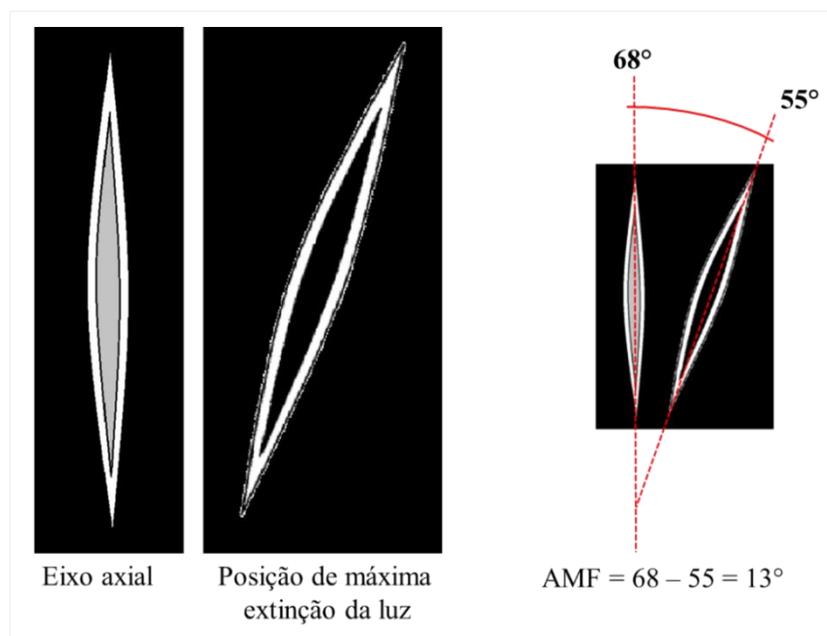


Figura 2 Esquema de determinação do AMF através da técnica de microscopia de luz polarizada

Na Figura 2, é apresentado um esquema dessa técnica, que envolve a rotação da fibra do seu eixo axial até que o FUNDO da célula se torne escuro, atingindo a chamada posição de máxima extinção. A diferença entre o eixo axial da fibra e a angulação da posição de máxima extinção determina o AMF (FIGURA 2), que se aproxima ao AMF da camada S2, por sua maior espessura em relação às demais camadas (DONALSON, 2008).

O efeito das camadas S1 e S3 na birrefringência da parede da fibra é geralmente pequeno, mas varia de acordo com a espessura da parede (PAGE; EL-HOSSEINY, 1974).

3.2 Lignina

A lignina é um polímero tridimensional complexo que ocorre, predominantemente, no xilema das plantas terrestres. Como um dos principais componentes da parede celular de traqueídes, vasos e fibras, a lignina contribui para a resistência à compressão no lenho e para a impermeabilização de elementos condutores do xilema (DONALDSON, 2001).

A lignificação é uma das etapas finais da diferenciação celular do xilema, na qual a lignina é depositada dentro da matriz da parede celular em um processo de preenchimento de espaços vazios interlamelares (DONALDSON, 2001) e formação de ligações químicas com as hemiceluloses, atuando como uma ponte ou um adesivo e garantindo a consistência entre a matriz e as microfibrilas de celulose (MESHITSUKA et al., 1982).

A lignificação começa nos cantos das células, nas regiões da lamela média e parede primária, espalhando-se, por meio da parede secundária em direção ao lume. A lignificação da lamela média e da parede primária geralmente começa após o início da formação da parede secundária, enquanto

que a lignificação da parede secundária começa quando esta encontra-se completa, o que é evidenciado pela presença da camada S3 (WARDROP, 1957).

Fujino e Itoh (1998), em estudo sobre o processo de lignificação de *Eucalyptus tereticornis* Sm., observaram a perda de porosidade da parede celular, conforme o processo de deposição de lignina prossegue, ilustrando a provável razão para as diferenças de concentração de lignina entre as regiões de parede celular, sendo que a matriz altamente porosa da lamela média e parede primária permitem maior deposição de lignina do que a parede secundária, mais densamente organizada.

A distribuição de lignina na parede celular das fibras de folhosas é semelhante a dos traqueídes de coníferas, no entanto, a parede secundária das fibras é frequentemente menos lignificada do que a dos traqueídes (DONALDSON, 2001).

Estudos sobre a distribuição de lignina nas fibras de lenho de compressão mostram que a lamela média dessas fibras é menos lignificada que no lenho normal (CÔTÉ; TIMELL; ZABEL, 1968) e que nos casos de compressão severa há formação de espaços intercelulares não lignificados (DONALDSON, 2001).

Em *Pinus thunbergii* a lignificação da parede secundária ocorre por um período prolongado no lenho de compressão, enquanto a formação S2 ainda está em andamento, há uma lignificação mais ativa ocorrendo na região externa de S2. Já, no lenho normal a lignificação torna-se ativa apenas após a completa formação de S3 (FUKUSHIMA; TERASHIMA, 1991).

Na madeira de compressão, a presença de espaços intercelulares nos cantos das células reduz a contribuição do teor de lignina da lamela média no teor de lignina total. O conteúdo de lignina da madeira de compressão é geralmente muito mais elevado que o da madeira normal, como resultado da parede secundária altamente lignificada (WATSON; DADSWELL, 1957).

O lenho de tração caracteriza-se por alto conteúdo de celulose e baixo conteúdo de lignina (BAILLÉRES et al., 1997), quando comparado com o lenho normal, e pela formação de camada G no interior da célula. No passado, acreditava-se que a camada G era deslignificada, mas o uso de novas técnicas químicas comprovaram a presença de quantidades de pectina, hemiceluloses e lignina na camada G de *Liquidam barstyraciflua* e *Celtis occidentalis* (BOWLING; VAUGHN, 2008).

O processo de lignificação tem sido estudado por uma variedade de técnicas, como histoquímica, absorção de UV, microscopia de fluorescência, microscopia eletrônica de transmissão, entre outras. Imagens de fluorescência podem fornecer a visualização direta da distribuição de lignina em diferentes regiões de parede celular, em razão da autofluorescência da lignina. A intensidade do brilho é diretamente e linearmente proporcional à concentração de lignina (KUTSCHA; MCORMOND, 1972).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta do material e confecção de amostras

Para a realização deste experimento foram utilizados três diferentes clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* aos 6,5 anos de idade, cultivados na região de Ipatinga e Belo Oriente – Minas Gerais. O material foi fornecido pela empresa CENIBRA S.A., cujos plantios são voltados à produção de celulose.

Foram selecionadas três árvores com tronco ereto para cada um dos híbridos (Tabela 1). De cada árvore abatida foi retirada, em torno do DAP, uma secção de 25 cm de altura, então uma das faces foi aplainada para gerar uma superfície de apoio e a faixa central do tronco foi retirada com o auxílio de serra fita simples.

As árvores selecionadas, apesar de eretas, foram sujeitas a tempestades quando apresentavam em torno de 24 meses de idade. De acordo com relatos, elas tornaram-se encurvadas nessa idade, mas recuperaram o porte ereto a partir de então.

Tabela 1 Dimensões das árvores de clones de híbridos de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* aos 6,5 anos

Clone	Árvore	Procedência	DAP (cm)	Altura total (m)
CNB010	1	Belo Oriente	23,65	30,25
	2		20,80	29,57
	3		19,65	29,55
CNB007	1	Belo Oriente	18,35	24,50
	2		18,00	24,80
	3		18,50	24,70
CNB005	1	Ipatinga	15,25	24,10
	2		17,75	25,70
	3		17,50	24,90

A prancha central resultante do corte, com 5 cm de espessura, 25 cm de altura e largura correspondente ao diâmetro do torete foi dividida ao meio, sendo metade conservada para trabalhos futuros e metade segmentada, de acordo com a Figura 3. Os corpos de prova foram confeccionados em três posições do raio do disco, interna (próxima à medula), externa (próxima à casca) e intermediária, quando a largura da prancha permitia, gerando um total de 24 amostras em cada análise.

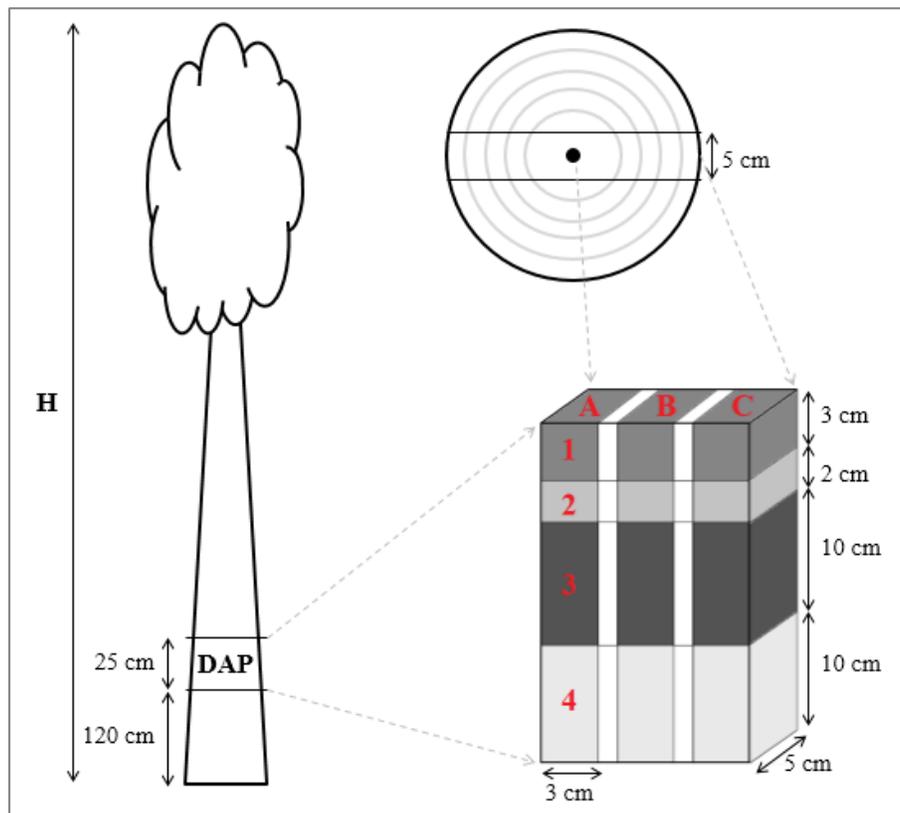


Figura 3 Esquema de amostragem

Nas amostras 1, foram utilizadas em testes físicos, 2 para determinação do AMF e análises anatômicas, 3 para análises químicas e 4 para teste mecânico. As posições A, B e C representam amostras internas, intermediárias e externas, respectivamente.

4.2 Determinação do AMF

4.2.1 Microscopia de luz polarizada

Para a medição do ângulo microfibrilar da parede celular das fibras, cortes tangenciais de 7 μm de espessura foram obtidos com o auxílio de um micrótomo de deslize. Os cortes foram colocados em frascos de vidro e cobertos com uma solução de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio, na proporção de 1:1 (FRANKLIN, 1945, modificado por BERLYN; MIKSCHE, 1976). Os frascos foram lacrados e deixados em estufa a 60°C durante 12 horas, para que ocorresse a dissolução da lamela média e a desagregação dos elementos anatômicos, formando um macerado que foi, então, lavado e armazenado em água destilada.

O AMF médio foi determinado, por meio da técnica de microscopia de luz polarizada, empregada por Lima, Breese e Cahalan (2004), realizando-se 20 medições por amostra.

4.2.2 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Para a determinação dos ângulos microfibrilares nas camadas da parede celular, foi empregada a microscopia eletrônica de transmissão. As amostras interna e externa da árvore com maior diâmetro de cada clone, totalizando seis amostras, foram emblocadas em resina RL White e seções tangenciais oblíquas de 80 nm foram preparadas com o auxílio de um ultramicrótomo. As seções foram colocadas em telas de cobre e coradas com acetato de uranila 0,1%, citrato de chumbo 0,1%, permanganato de potássio 0,1% em citrato de sódio 0,1% e novamente citrato de chumbo 0,1%, por 3 minutos cada (adaptado de DONALDSON; XU, 2005). Os cortes foram analisados em microscópio

eletrônico de transmissão FEI 120 no Centro de Microscopia na Universidade Federal de Minas Gerais, as camadas da parede celular foram identificadas visualmente pela diferença no direcionamento das microfibrilas e o AMF de cada camada foi determinado pela marcação das linhas descritas pelas microfibrilas em relação à margem das fibras, em imagens impressas em papel e com o auxílio de um transferidor.

4.3 Testes físicos

A densidade básica foi determinada pelo método de imersão, segundo a norma NBR-7190 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1997), utilizando-se corpos de prova com dimensões 2×3×3 cm, livres de defeitos.

A estabilidade dimensional foi determinada, por meio do cálculo das contrações axial, radial, tangencial e volumétrica, realizadas nos mesmos corpos de prova destinados à determinação da densidade. Para a determinação das dimensões, foi utilizado paquímetro digital com precisão 0,01 mm.

4.4 Análise anatômica

As amostras para análise anatômica microscópica da madeira foram cortadas em forma de palito e colocadas em frascos de vidro contendo solução de ácido acético glacial e peróxido de hidrogênio numa proporção de 1:1. Os frascos foram vedados e levados à estufa a 60°C por 24 horas, para completa dissociação dos elementos celulares. O material foi lavado, armazenado em água destilada e corado com safranina 1% na sequência.

As fibras dissociadas foram analisadas em microscópio de luz com o auxílio do software Dino-Lite; foram realizadas medições de comprimento da

fibra, largura da fibra e diâmetro do lume, a espessura da parede foi obtida pela diferença entre diâmetro da fibra e do lume. 20 medições por amostra foram utilizadas para a obtenção de valor médio.

4.5 Teste mecânico

Foi realizado ensaio de compressão paralela às fibras, com objetivo de determinar o módulo de elasticidade e a resistência do material quanto a essa propriedade. O ensaio foi realizado segundo norma ASTM D143-94 (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 1997), utilizando-se corpos de prova livres de defeitos com dimensões de 2,5×2,5×10 cm.

4.6 Determinação do conteúdo de lignina

Para determinação do conteúdo de lignina, o material seco ao ar foi moído e classificado em peneiras de 40 e 60 mesh. Após determinação da umidade do material, remoção dos extrativos em série de toluol/etanol segundo a norma ABCP M3/89 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL, 1974), foi determinado o teor de lignina insolúvel, por meio do método de ataque ácido. Foram realizadas duas repetições por amostra.

O teor de lignina solúvel foi determinado por espectrometria, segundo o procedimento de Goldschmidt (1971), a partir do filtrado proveniente do procedimento para a obtenção de lignina insolúvel.

O teor de lignina total foi obtido, por meio da somatória dos teores de lignina solúvel e insolúvel.

4.7 Conteúdo de lignina via microscopia de fluorescência

As amostras interna e externa da árvore com maior diâmetro de cada clone, totalizando seis amostras, foram cortadas transversalmente com o auxílio de um micrótomo de deslize para obter cortes histológicos com 25 μm de espessura, que foram montados sobre lâminas com glicerol e cobertos com lamínulas (0,17 mm de espessura). Os cortes foram examinados com o microscópio de fluorescência modelo Obsever, Z1 Zeis, AX10. O comprimento de onda utilizado foi de 510 nm de excitação e o comprimento de onda de emissão de 50 nm (filtro GFP).

4.8 Análise dos dados

Foi realizada a estatística descritiva para os dados estudados e a correlação de Pearson entre o AMF via microscopia de luz polarizada, a lignina e as demais propriedades.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ângulo microfibrilar médio via microscopia de luz polarizada

O clone CNB005 apresentou o maior ângulo microfibrilar médio (AMF), com 8,3°, seguido dos clones CNB010 e CNB007, com 7,8° e 7,6°, respectivamente (TABELA 2). Não foi observada diferença estatística entre os clones para AMF médio. O AMF apresentou mínimo de 6,3° e máximo de 10,2°, dependendo do clone. Esses valores estão em conformidade com o que foi relatado por Lima, Breese e Cahalan (2004), que encontraram um AMF médio de 8,8° para onze clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos oito anos.

Tabela 2 Ângulo microfibrilar médio da madeira de clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Clone	Posição radial	AMF (°)	Média	Máximo	Mínimo	CV
CNB010	A	9,6	7,8	10,2	6,3	18,6
	B	7,3				
	C	6,5				
CNB007	A	8,5	7,6	8,8	7,0	9,5
	B	7,3				
	C	7,0				
CNB005	A	8,5	8,3	8,9	7,1	8,3
	C	8,0				

AMF - Ângulo microfibrilar; CV - Coeficiente de variação.

Pode ser observado, por meio da Figura 4 que o AMF diminui da medula em direção à casca, com taxas de 32%, 18% e 6% para os clones CNB010, CNB007 e CNB005, respectivamente. Medhurst et al. (2012)

encontraram uma redução de 25% da medula para casca nos seis primeiros anéis de crescimento de *E. nitens*, Lima, Breese e Cahalan (2004) encontraram uma redução média de 13% em onze clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos oito anos.

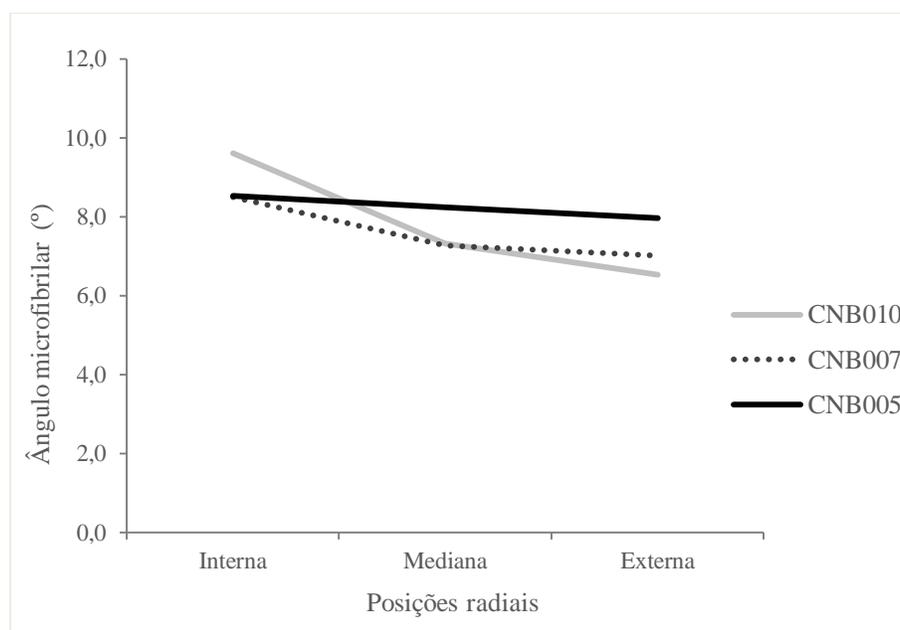


Figura 4 Variação do ângulo microfibrilar médio da madeira de três clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

5.2 Características físicas da madeira

De maneira geral, foi observado um aumento para todas as contrações estudadas no sentido medula - casca, fato também observado por Oliveira e Silva (2003) em estudo com clones *E. saligna* aos 16 anos. Donaldson (2008) destacou que células com baixo AMF tendem a apresentar maiores contrações tangenciais, o que se aplica a este estudo, uma vez que observam-se maiores contrações tangenciais nas amostras externas, que apresentam menores ângulos

microfibrilares, em relação às amostras internas. O mesmo autor destaca ainda que maiores contrações axiais são geralmente observadas em paredes celulares que apresentam altos AMF, fato que não pôde ser comprovado pelo estudo em questão, que apresentou contrações axiais, variando independentemente da posição de amostragem (TABELA 3).

A maior densidade básica média foi observada para o clone CNB005 com $0,502 \text{ g.cm}^{-3}$, seguidas dos clones CNB007 e CNB005, com $0,457$ e $0,427 \text{ g.cm}^{-3}$, respectivamente. Queiroz et al. (2004), em trabalho sobre polpação kraft, encontraram para clones de *E. grandis* \times *E. urophylla* aos 6 anos, densidades básicas de $0,447$ e $0,552 \text{ g.cm}^{-3}$, dados que corroboram com os encontrados neste estudo.

Tabela 3 Valores médios para densidade básica e contrações da madeira de clones de *E. grandis* \times *E. urophylla* aos 6,5 anos

Clone	Posição radial	DB (g.cm^{-3})	Contração (%)			
			CTg	CRd	CAX	CVol
CNB010	Interna	0,387	5,67	2,94	0,20	14,07
	Intermediária	0,399	10,99	7,68	0,43	16,85
	Externa	0,494	11,57	6,79	0,40	20,61
CNB007	Interna	0,396	7,54	6,14	0,02	16,57
	Intermediária	0,466	9,49	5,39	0,19	18,38
	Externa	0,508	10,78	8,48	0,22	18,82
CNB005	Interna	0,486	6,87	3,62	0,34	17,86
	Externa	0,518	10,49	5,76	0,13	16,99

DB – Densidade básica; CTg – Contração tangencial; CRd – Contração radial; CAX – Contração axial; CVol – Contração volumétrica.

A correlação entre AMF e densidade básica não se mostrou conclusiva (Tabela 4), como já foi observado por diversos autores. Evans, Stringer e

Kibblewhite (2000), em estudo com *E. nitens* observaram uma significativa correlação entre AMF e densidade básica, enquanto Schimleck, Evans e Ilic (2003), estudando a mesma espécie, não encontraram significância nessa correlação.

Segundo Evans, Stringer e Kibblewhite (2000), a correlação entre AMF e densidade básica se mostra forte quando são observados alguns poucos anéis de crescimento consecutivos, mas não se mantém entre árvores da mesma espécie. Donaldson (2008) apontou a possibilidade de que correlações significativas entre essas duas propriedades possam ser apenas coincidências, uma vez que o AMF não apresenta correlação significativa com a espessura da parede, enquanto a densidade básica apresenta. Outro fato apontado pelo autor é que a proporção entre lenho inicial e lenho tardio pode ser responsável pelas correlações em alguns casos, já que essa proporção tem influência sobre ambos AMF e densidade.

Tabela 4 Correlação de Pearson entre ângulo microfibrilar e características físicas da madeira dos clones de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* aos 6,5 anos

Clone	DB	CTg	CRd	CAx	CVol
CNB010	-0,67	-0,76	-0,61	-0,29	-0,68
CNB007	-0,82	-0,61	-0,33	-0,52	-0,42
CNB005	-0,58	-0,33	-0,70	0,23	-0,45

DB – Densidade básica; CTg – Contração tangencial; CRd – Contração radial; CAx – Contração axial; CVol – Contração volumétrica.

De maneira geral, foi possível observar, por meio dos dados, que o AMF é indiretamente proporcional à densidade e às contrações da madeira, estando medianamente correlacionado a elas.

5.3 Dimensões das fibras

Por meio da Tabela 5, é possível observar a variação radial das dimensões das fibras. Houve tendência de aumento no comprimento e na espessura da parede das fibras na direção medula-casca para todos os clones estudados. Com relação à largura das fibras, observou-se aumento no sentido medula-casca para os clones CNB007 e CNB005, já o clone CNB010 apresentou aumento da largura das fibras da medula para a zona intermediária e redução desta para a casca.

Tabela 5 Dimensões médias das fibras da madeira de clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Clone	Posição radial	Comprimento (µm)	Largura (µm)	Diâmetro do lume (µm)	Espessura da parede (µm)
CNB010	Interna	912,33	19,55	12,06	3,75
	Intermediária	1024,96	22,31	14,63	3,84
	Externa	1126,83	20,84	8,45	6,20
CNB007	Interna	937,38	19,32	12,77	3,28
	Intermediária	1085,81	21,86	13,89	3,99
	Externa	1292,65	25,55	12,22	6,66
CNB005	Interna	921,19	17,41	9,40	4,01
	Externa	1121,40	18,32	8,94	4,69

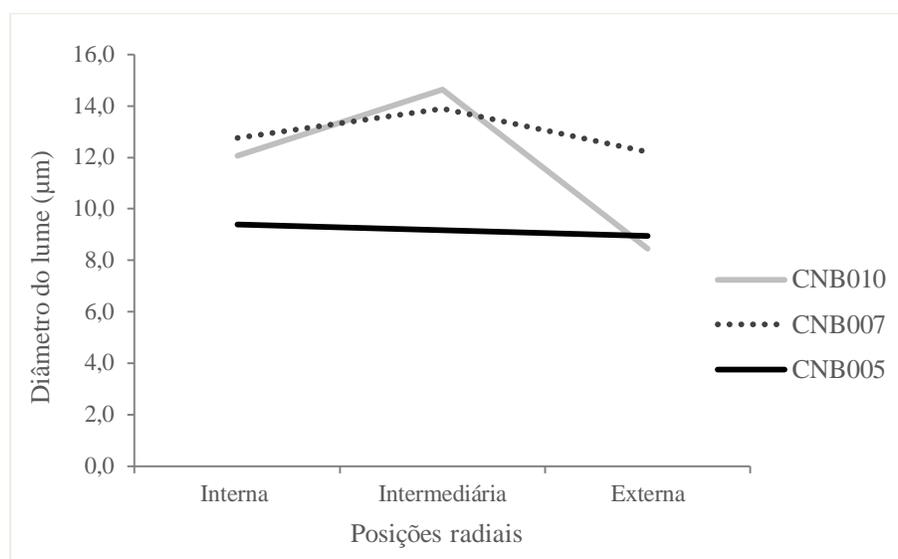


Figura 5 Diâmetro do lume das fibras da madeira de três clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Em relação ao diâmetro do lume, é possível observar maiores valores próximos à medula e menores próximos à casca para os clones estudados. Pela Figura 5, é possível observar que ocorre um aumento no diâmetro do lume da região interna para a intermediária de CNB010 e CNB007, só depois ocorrendo a redução do diâmetro do lume desta para a região externa. O DAP reduzido das árvores do clone CNB005 impossibilitou a confecção de amostras intermediárias, o que torna impossível afirmar se o mesmo comportamento para largura da fibra se verifica nesse clone.

Na Tabela 6, apresentam-se correlações moderadas entre o AMF e as dimensões celulares, destacando-se a tendência de redução das dimensões das fibras com o aumento do AMF. Donaldson (2008) destaca que já é conhecida a existência de uma correlação de moderada a forte entre AMF e comprimento de traqueídes, mas, ainda, não foi determinado se essa correlação tem uma causa ou é mera coincidência.

Tabela 6 Correlação de Pearson entre ângulo microfibrilar e dimensões das fibras da madeira de clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Clone	Comprimento	Largura	Esp. parede
CNB010	-0,66	-0,50	-0,75
CNB007	-0,42	-0,62	-0,72
CNB005	-0,73	-0,38	-0,39

5.4 Propriedades mecânicas

O clone CNB005 apresentou o maior valor médio para Módulo de elasticidade (MOE), 7615 MPa, seguido dos clones CNB007 e CNB010, com 6704 e 5343 MPa, respectivamente. Os valores médios para resistência à compressão seguiram o mesmo, sendo CNB005 o mais resistente, suportando uma carga de 49 MPa, seguido de CNB007 e CNB005, suportando cargas de 45 e 36 MPa, respectivamente.

Hein e Lima (2012), em estudo com *E. grandis* aos 6,5 anos, encontraram valores para MOE, variando de 4648 a 11025 MPa, intervalo que inclui o observado neste estudo. Para resistência, à compressão, os resultados obtidos pelos autores variaram de 29 a 51 MPa, semelhantes ao observado para os clones de *E. grandis* × *E. urophylla* utilizados neste estudo.

Tabela 7 Valores médios em ensaio de compressão paralela às fibras da madeira de clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Clone	Posição radial	MOE (MPa)	Resistência a compressão (MPa)
CNB010	Interna	4382	29
	Intermediária	5313	34
	Externa	6333	44
MÉDIA		5343	36
CNB007	Interna	4270	33
	Intermediária	7071	44
	Externa	8771	57
MÉDIA		6704	45
CNB005	Interna	6591	45
	Externa	8639	53
MÉDIA		7615	49

MOE – Módulo de elasticidade.

Na Tabela 7, é possível inferir que menores ângulos das microfibrilas estão associados amadeiras mais rígidas e mais resistentes à compressão, dados corroborados pela Tabela 8, que apresenta fortes correlações, em sua maioria, entre AMF e propriedades mecânicas dos clones.

Tabela 8 Correlação de Pearson entre ângulo microfibrilar e propriedades mecânicas da madeira de clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Clone	MOE	Resistência à Compressão
CNB010	-0,79	-0,57
CNB007	-0,90	-0,87
CNB005	-0,35	-0,65

5.5 Conteúdo de lignina

Na Tabela 9, são apresentados os valores médios de lignina insolúvel nas diferentes posições para cada clone, sendo que não foi observada diferença estatística entre posições ou clones.

Tabela 9 Valores médios para teor de lignina insolúvel, solúvel e total da madeira de clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos

Lignina	Clone	Posição radial			Média (%)
		Interna (%)	Intermediária (%)	Externa (%)	
Insolúvel	CNB010	19,5	18,9	18,1	18,8
	CNB007	20,5	20,8	24,3	21,9
	CNB005	22,7	21,1	22,4	22,1
Solúvel	CNB010	3,6	3,7	4,0	3,8
	CNB007	4,3	3,6	3,1	3,6
	CNB005	2,8	3,1	3,0	3,0
Total	CNB010	23,1	22,6	22,1	22,6
	CNB007	24,7	24,4	27,4	25,5
	CNB005	25,6	24,2	25,5	25,1

Os teores de lignina insolúvel variaram de 18,8% a 22,1%, valores inferiores aos encontrados por Arantes (2009), que, ao trabalhar com clones e *E. grandis* × *E. urophylla* aos seis anos, encontrou um valor médio para teor de lignina insolúvel de 26,97%.

Como as árvores utilizadas no presente estudo apresentavam inclinação até os 24 meses, em decorrência de tempestades, recuperando o porte ereto a partir de então, existe a possibilidade de que a redução no teor de lignina em relação a outros estudos se deva à presença de lenho de tração nas mesmas.

Embora o clone CNB005 apresente teores de lignina solúvel menores em relação aos demais, não foi observada diferença estatística entre posições ou clones. Os teores médios de lignina solúvel observados variaram de 3,0% a 3,8%, valores próximos ao observado por Arantes (2009), que encontrou um teor médio de 3,01%, e dentro do intervalo de 3,1% a 5,1% encontrado por Gomide et al. (2005), ao estudar dez clones de *Eucalyptus* sp.

Para o teor de lignina total, não houve diferença estatística entre clones, em nenhuma posição estudada. Os teores médios de lignina total variaram 22,6% a 25,5%, inferiores à média de 29,3% encontrada por Gomide et al. (2005).

Como o material em questão é plantado para a produção de celulose, deve ser considerada também a possibilidade de que tenha sido realizado melhoramento genético ou seleção e clonagem de indivíduos com menores teores de lignina, o que poderia justificar os valores inferiores encontrados em relação a alguns valores publicados.

Não houve uma tendência comum aos três clones para a variação radial dos teores de lignina insolúvel, solúvel e total em função da posição de amostragem.

5.6 Distribuição de lignina através da parede celular

Na Figura 6, são apresentadas as imagens de microscopia de fluorescência para as madeiras dos três clones nas posições interna e externa.

Em todas as imagens, é possível observar brilho mais intenso nos cantos das células e nas paredes dos vasos (quando presentes), seguidos pela lamela média das fibras, com intensidade de brilho menor que os anteriores, porém maior do que as demais camadas da parede celular, o que indica a presença de um maior teor de lignina nessas três regiões em relação à parede secundária.

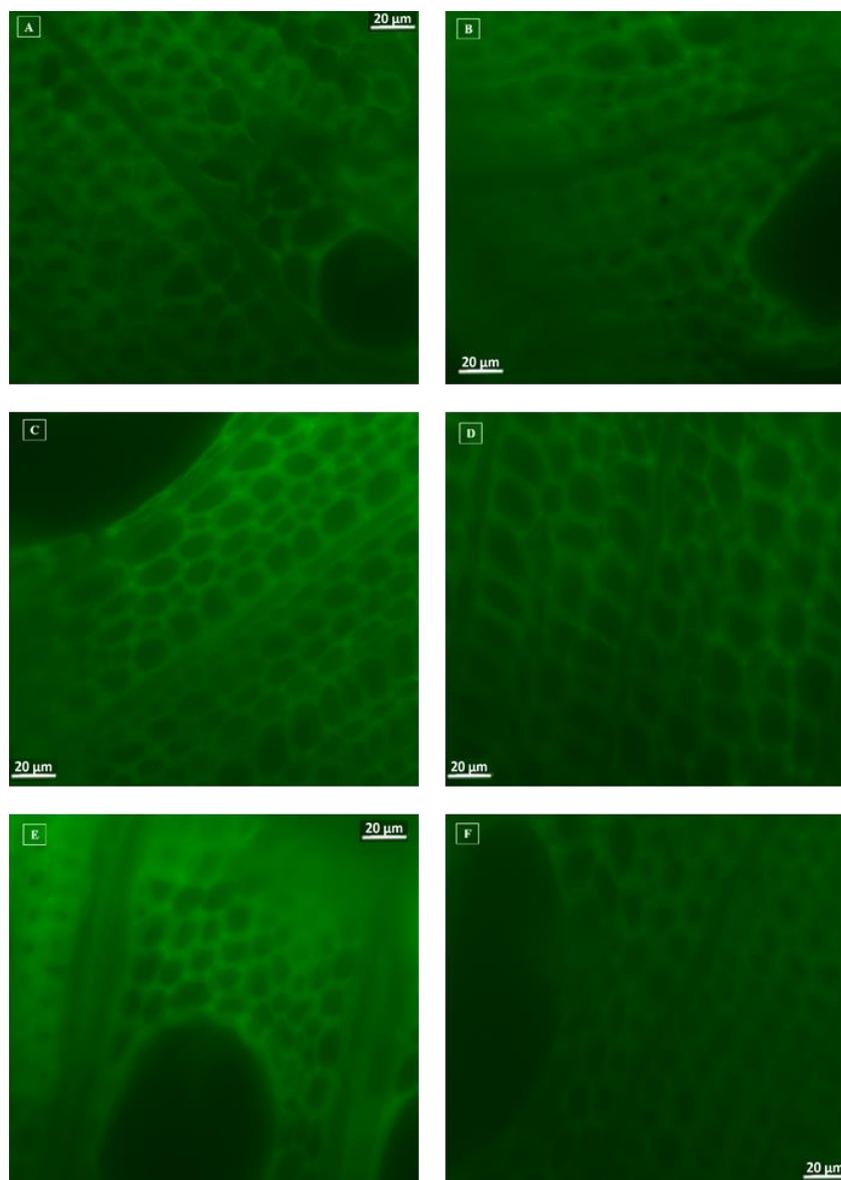


Figura 6 Imagem de microscopia de fluorescência de amostras de madeira de três clones de *E. grandis* × *E. urophylla* aos 6,5 anos, com aumento de 40×. A) Amostra da região interna de CNB010. B) Amostra da região externa de CNB010. C) Amostra da região interna de CNB007. D) Amostra da região externa de CNB007. E) Amostra da região interna da CNB005. F) Amostra da região externa de CNB005

5.7 Ângulo microfibrilar através da parede celular

Os cortes preparados, de acordo com os métodos empregados por Donaldson e Xu (2005), de forma geral continham artefatos causados pela navalha, durante a ultramicrotomia e pela precipitação do citrato de chumbo e do acetato de uranila (Figura7) que prejudicaram a observação. Dessa forma, vários cortes foram inviabilizados para a observação dos AMF nas diferentes camadas, principalmente nas camadas S1 e S3. Isso revela a necessidade de refinar a metodologia empregada para o preparo das amostras. Mesmo assim, por meio dos diferentes tons acinzentados, foi possível diferenciar a S2 das demais camadas.

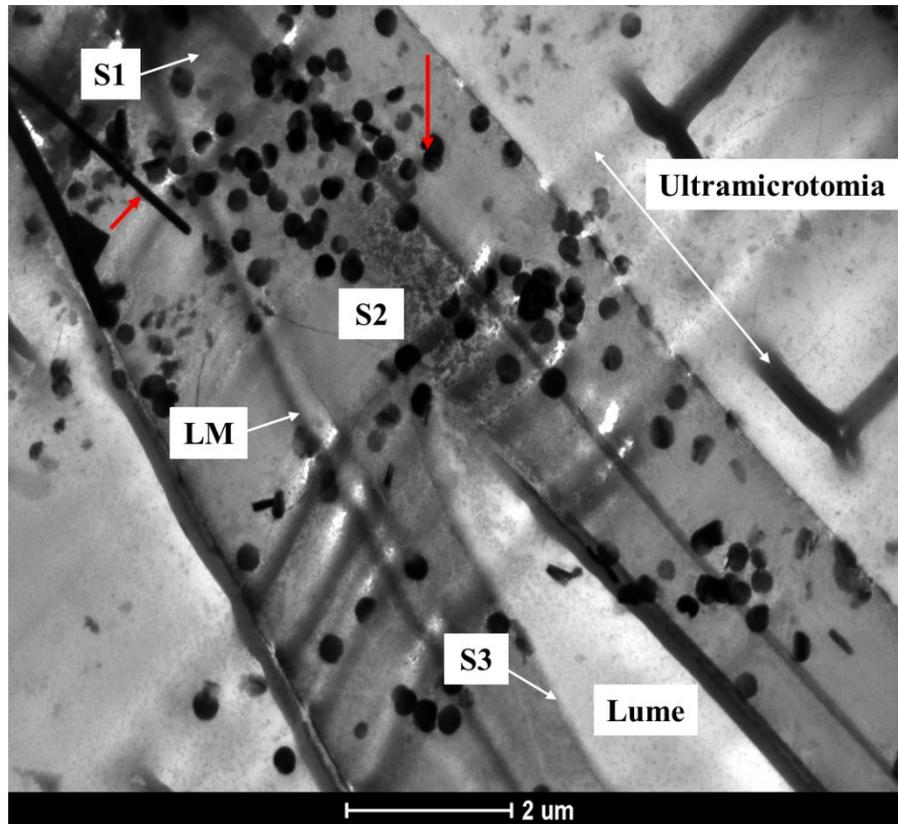


Figura 7 Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de uma fibra do clone CBN007 (posição interna). Setas brancas indicam as camadas da parede celular. Seta de duas pontas indica ranhura causada pela ultramicrotomia. Setas vermelhas indicam artefatos presentes: acetato de uranila (seta curta) e citrato de chumbo (seta longa)

Nas amostras provenientes da posição interna do tronco dos clones CNB007 e CNB010, foi possível identificar em algumas imagens produzidas pelo microscópio eletrônico de transmissão (MET) as inclinações das microfibrilas na camada S2 e nas faixas de transição entre S1-S2 e S2-S3'

Na Figura 8, apresenta a marcação para medição do ângulo com a linha de referência, paralela à lamela média composta e a linha pontilhada, representando a inclinação da microfibrila.

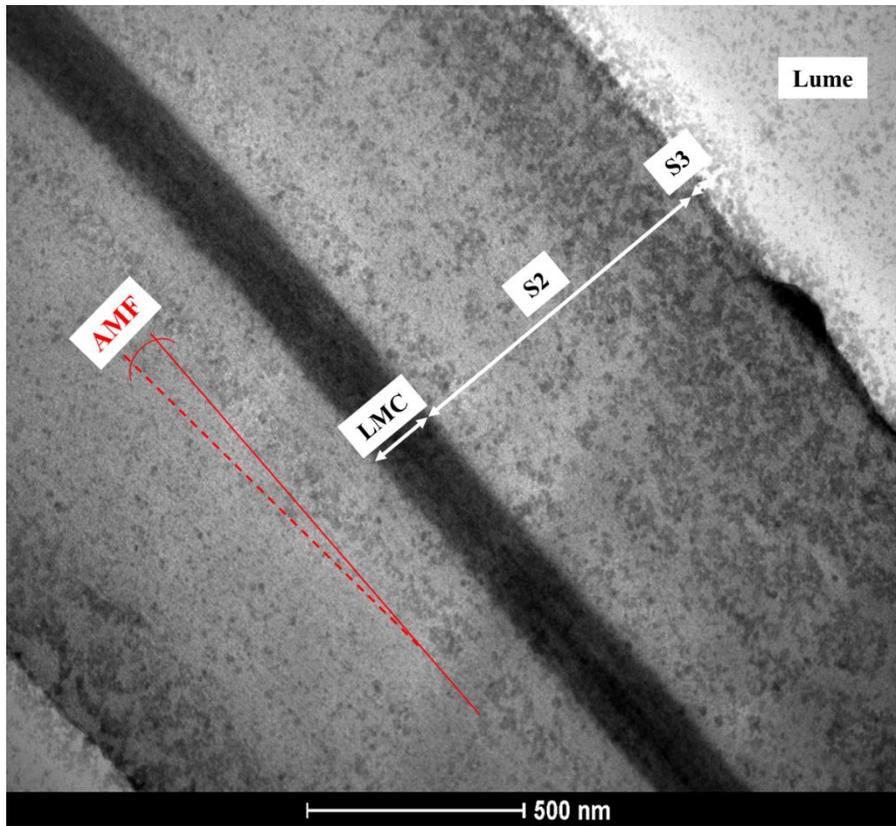


Figura 8 Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de uma fibra do clone CBN007 (posição interna). Setas brancas indicam a espessura das camadas da parede celular. LMC – Lamela média composta (lamela média e camada S1)

Na Figura 9, observa-se o que, possivelmente, é uma faixa de transição entre as camadas S1 e S2, na qual a inclinação varia de uma posição mais próxima da horizontal para uma mais próxima da vertical de maneira mais suave, enquanto que, na Figura 10, observa-se uma possível faixa de transição entre as camadas S2 e S3, sendo que essa transição ocorre de maneira mais abrupta.

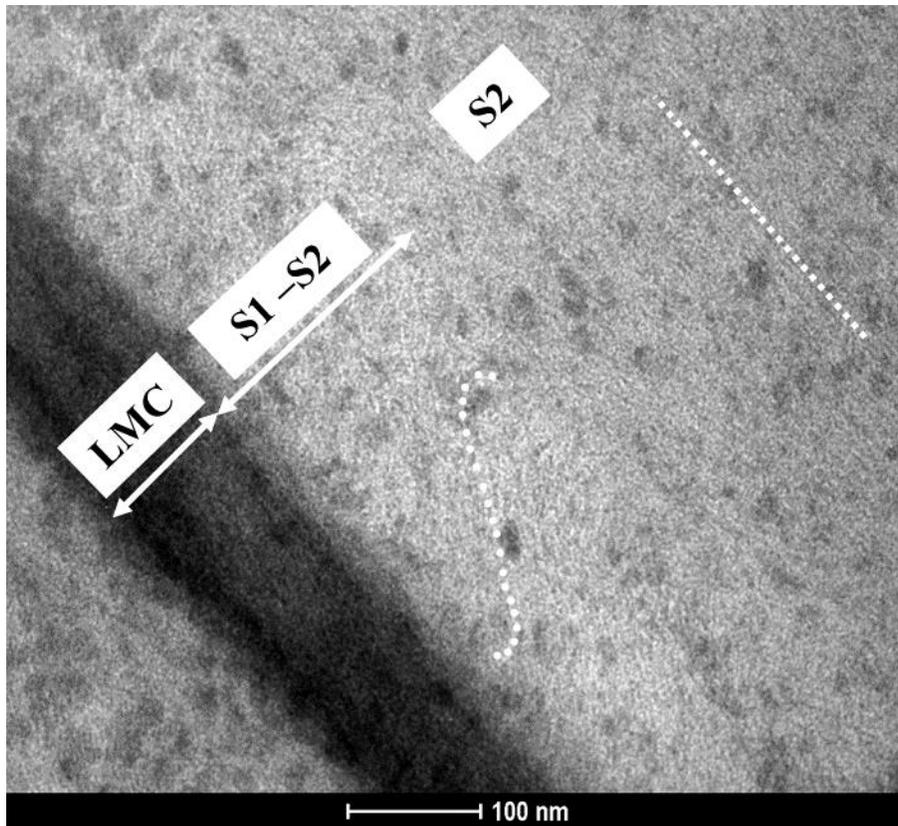


Figura 9 Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de uma fibra do clone CBN007 (posição interna). Linha pontilhada reta indica direcionamento das microfibrilas da camada S2. Linha pontilhada curva indica inclinação das microfibrilas ao longo da camada de transição entre S1 e S2. LMC – Lamela média composta. S1-S2 – Faixa de transição entre camadas

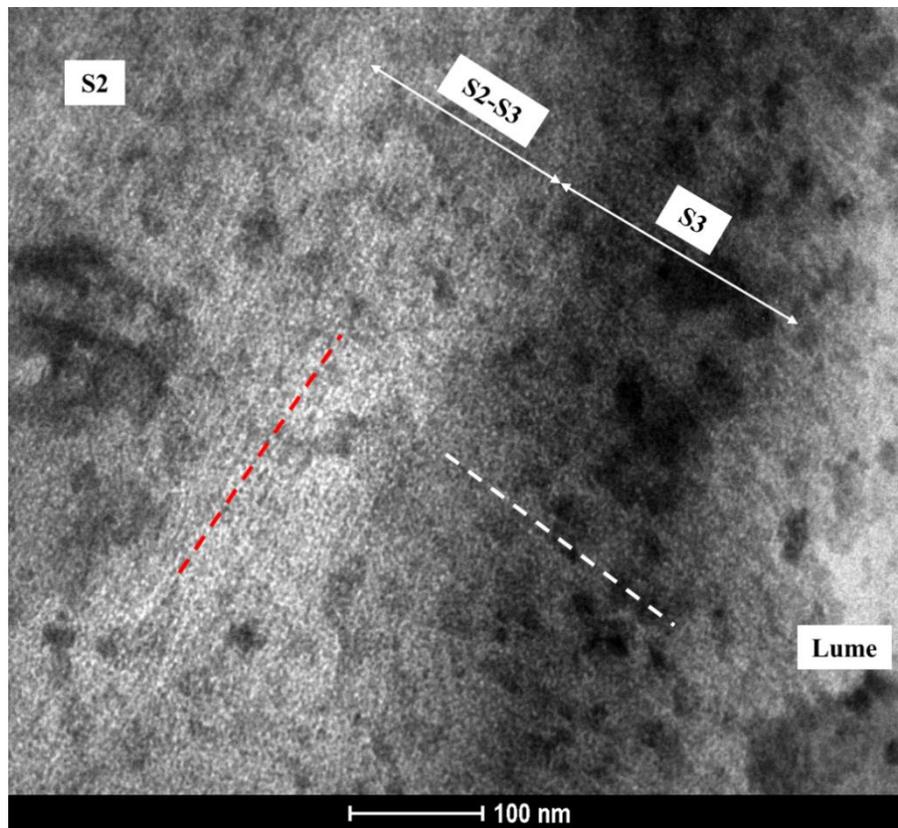


Figura 10 Imagem de microscopia eletrônica de transmissão de uma fibra do clone CBN010 (posição interna). Linha pontilhada branca indica inclinação das microfibrilas da camada S3. Linha pontilhada vermelha indica inclinação das microfibrilas ao longo da camada de transição entre S2 e S3. S1-S3 – Faixa de transição entre camadas

Na Tabela 10, são apresentados os valores médios obtidos para AMF ao longo das camadas da parede celular.

Vale notar que o ângulo das microfibrilas varia, mesmo dentro da camada S2. Foram observados AMF variando de 0° a 12° , em várias posições da camada S2 e na faixa de transição entre S1 e S2 os AMF variaram de 38° a 84° , ambos na amostra CNB007. Essas variações dentro das camadas da parede

celular também foram observadas por Donaldson e Xu (2005), pesquisando traqueídes da madeira de *Pinus radiata* aos 17 anos.

Tabela 10 Variação do ângulo microfibrilar das camadas da parede celular de fibras de madeira de clones de *Eucalyptus grandis* × *Eucalyptus urophylla* aos 6,5 anos

Amostra	S3 (°)	S2 (°)	S2-S1 (°)
CNB007 interna	-	6,7	49,4
CNB010 interna	74,5	3,0	6,0
CNB010 externa	-	6,4	-

6 CONCLUSÕES

Para as madeiras dos clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, com seis e meio anos de idade, foi possível concluir que:

- a) O ângulo microfibrilar médio variou entre 7,6° e 8,3°, sendo que em todos os clones observou-se uma tendência de decréscimo do AMF no sentido medula – casca;
- b) A densidade básica média variou entre 0,427 g.cm⁻³ e 0,502 g.cm⁻³, sendo que, em todos os clones, observou-se uma tendência de acréscimo da densidade no sentido medula – casca;
- c) As contrações axial, radial, tangencial e volumétrica das madeiras variaram de moderadas a elevadas, com tendência a aumentarem no sentido medula – casca;
- d) O comprimento das fibras das madeiras dos clones variou entre 1021 µm e 1105 µm; a largura das fibras variou entre 17,86 µm e 22,24 µm; o diâmetro do lume variou entre 9,17 µm e 12,96 µm e a espessura da parede das fibras variou entre 4,35 µm e 4,64 µm. Excetuando-se pelo diâmetro do lume, que não apresentou tendência, todas as outras dimensões tenderam a aumentar no sentido medula – casca;
- e) A resistência à compressão paralela às fibras da madeira dos clones variou entre 29 e 57 MPa, enquanto o módulo de elasticidade em compressão variou entre 4270 MPa e 8771 MPa. As propriedades mecânicas em compressão aumentaram no sentido medula – casca;
- f) O teor de lignina insolúvel da madeira dos clones variou de 18,84% a 22,08%, não sendo possível observar uma tendência no sentido medula – casca comum aos três clones. O teor de lignina solúvel

variou de 3% a 3,77%, não sendo possível observar uma tendência no sentido medula – casca comum aos três clones. O teor de lignina total variou de 22,6% a 25,8%, não sendo possível observar uma tendência no sentido medula – casca comum aos três clones;

- g) A microscopia de fluorescência indicou maior presença de lignina nos cantos da fibra, seguidos da lamela média e das demais camadas da parede celular, não sendo possível diferenciar pela intensidade do brilho S1, S2, S3 e, conseqüentemente, seus teores de lignina;
- h) As relações do AMF com as outras propriedades da madeira mostraram-se mais fortes para densidade da madeira, contração tangencial e propriedades mecânicas;
- i) Observações com o microscópio eletrônico de transmissão permitiram diferenciar a camada S2 da parede celular das demais camadas. Os ângulos microfibrilares – AMF – variaram dentro da mesma camada da parede celular, seja S1, S2 ou S3. A madeira interna do clone CNB007 apresentou AMF da camada S2 igual a 6,7° e 49,4° na camada de transição S1-S2. A madeira do centro do tronco do clone CNB010 apresentou AMF igual a 74,5° na camada S3, 3,0° na camada S2 e 6,0° na camada de transição S1-S2.

REFERÊNCIAS

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

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. D 143-94: standard methods of testing small, clear specimens of timber. In: _____. **Annual book of ASTM standards**. Denvers, 1997. p. 23-53.

ARANTES, M. D. C. **Variação nas características da madeira e do carvão vegetal de um clone de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden X *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake**. 2009. 149 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL. **Normas Técnicas ABCP**. São Paulo, 1974.

BAILLÉRES, H. et al. Lignin structure in *Buxus sempervirens* reaction wood. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 35-39, Apr. 1997.

BENDTSEN, B. A.; SENFT, J. Mechanical and anatomical properties in individual growth rings of plantation-grown eastern cottonwood and loblolly pine. **Wood Fibre Science**, Madison, v.18, n. 1, p. 23-38, Jan. 1986.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Yowa State University, 1976.

BOOKER, R. E. The importance of the S3 cell wall layer in collapse prevention and wood hardness. In: FOREST PRODUCTS RESEARCH CONFERENCE, 24., 1993, Clayton, Australia. **Anais...** Clayton, Australia: CSIRO, 1993. p. 1-13.

BOWLING, A. J.; VAUGHN, K. C. Immunocytochemical characterization of tension wood: gelatinous fibers contain more than just cellulose. **American Journal of Botany**, Lancaster, Pa., v. 95, n. 6, p. 655-663, June 2008.

BOYD, J. D. Relationships between fibre morphology, growth strains and physical properties of wood. **Australian Forest Research**, Canberra, v. 10, n. 4, p. 337-360, 1980.

CAVE, I. D. The anisotropic elasticity of the plant cell wall. **Wood Science and Technology**, New York, v. 2, n. 4, p. 268-278, 1968.

CAVE, I. D.; WALKER, J. C. F. Stiffness of wood in fast-grown plantation softwoods: The influence of microfibril angle. **Forest Products Journal**, Madison, v. 44, n. 5, p. 43-48, 1994.

CÔTÉ, W. A.; TIMELL, T. E.; ZABEL, R. A. Studies on compression wood I. Distribution of lignin in compression wood of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). **Holz Roh-Werkstoff**, Berlin, v. 24, n. 10, p. 432-438, 1968.

DONALDSON, L. A. Lignification and lignin topochemistry: an ultrastructural view. **Phytochemistry**, Oxford, v. 57, n. 6, p. 859-873, June 2001.

DONALDSON, L. A.; XU, P. Microfibril orientation across the secondary cell wall of radiate pine tracheids. **Trees**, Berlin, v. 19, n. 6, p. 644-653, Nov. 2005.

DONALDSON, L. Microfibril angle: measurement, variation and relationships - a review. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 29, n. 4, p. 345-386, 2008.

DOWNES, G. et al. Wood, pulp and handsheet relationships in plantation grown *Eucalyptus globulus*. **Appita Journal**, Hobart, v. 56, n. 3, p. 221-228, 2003.

EVANS, R.; STRINGER, S.; KIBBLEWHITE, R. P. Variation of microfibril angle, density and fibre orientation in twenty-nine *Eucalyptus nitens* trees. **Appita Journal**, Hobart, v. 53, n. 3, p. 450-457, 2000.

EVANS, R.; STUART, S. A.; VAN DER TOUW, J. Microfibril angle scanning of increment cores by X-ray diffractometry. **Appita Journal**, Hobart, v. 49, n. 6, p. 411-414, 1996.

FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, London, v. 155, n. 3924, p. 51, Jan. 1945.

FUJINO, T.; ITOH, T. Changes in the three dimensional architecture of the cell wall during lignification of xylem cells in *Eucalyptus tereticornis*. **Holzforschung**, Berlin, v. 52, n. 2, p. 111-116, Jan. 1998.

FUKUSHIMA, K.; TERASHIMA, N. Heterogeneity in formation of lignin. Part XV: Formation and structure of lignin in compression wood of *Pinus thunbergii* studied by microautoradiography. **Wood Science and Technology**, New York, v. 25, n. 5, p. 371-381, July 1991.

GOLDSCHMIDT, O. Ultraviolet Spectra. In: SARKANEN, K. V.; LUDWIG, C. H. (Ed.). **Lignin**: occurrence, formation, structure and reactions. New York: Wiley Interscienc, 1971. p. 241-266.

GOMIDE, J. L. et al. Caracterização tecnológica, para produção de celulose, da nova geração de clones de *Eucalyptus* do Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 1, p. 129-137, 2005.

HARRIS, J. M.; MEYLAN, B. A. The influence of microfibril angle on longitudinal and tangential shrinkage in *Pinus radiata*. **Holzforschung**, Berlin, v. 19, p. 144-153, 1965.

HARRIS, P. J. Primary and secondary plant cell walls: A comparative overview. **New Zealand Journal of Forestry Science**, Rotorua, v. 36, n. 1, p. 36-53, 2006.

HEIN, P. R. G.; LIMA, J. T. Relationships between microfibril angle, modulus of elasticity and compressive strength in *Eucalyptus* wood. **MADERAS: Ciencia y Tecnología Jornal**, Concepción, v. 14, n. 3, Nov. 2012.

HORN, R. A. **Morphology of wood pulp fibre from softwoods and influence on paper strength**. Madison: USDA Forest Service Research Paper, Forest Products Laboratory, 1974.

KUTSCHA, N. P.; MCORMOND, R. R. The suitability of using fluorescence microscopy for studying lignification in balsam fir. **Technical Bulletin - Life Sciences and Agriculture Experiment Station**, Orono, v. 62, p. 1-15, Nov. 1972.

LIMA, J. T.; BREESE, M. C.; CAHALAN, C. M. Variation in microfibril angle in *Eucalyptus* clones. **Holzforschung**, Berlin, v. 58, n. 2, p. 160-166, 2004.

MEDHURST, J. et al. Intra-specific competition and the radial development of wood density, microfibril angle and modulus of elasticity. **Trees**, Berlin, v. 26, n. 6, p. 1771-1780, Dec. 2012.

MESHITSUKA, G.; LEE, Z. Z.; NAKANO, J.; EDA, S. Studies on the nature of lignin-carbohydrate bonding. **Journal of Wood Chemistry and Technology**, Abingdon, v. 2, n. 3, p. 251-267, 1982.

MÜLLER, M. et al. Direct observation of microfibril arrangement in a single native cellulose fibre by microbeam small-angle X-ray scattering. **Macromolecules**, Easton, v. 31, n. 12, p. 3953-3957, May 1998.

OLIVEIRA, J. T. S.; SILVA, J. C. Variação radial da retratibilidade e densidade básica da madeira de *Eucalyptus saligna* Sm. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 27, n. 3, p. 381-385, Maio/Jun.2003.

PAGE, D. H.; EL-HOSSEINY, F. The birefringence of wood pulp fibres and the thickness of S1 and S3 layers. **Wood and Fiber**, Lawrence, v. 6, n. 3, p. 186-192, 1974.

PAGE, D. H. et al. The mechanical properties of singlewood pulp fibres. Part 1: A new approach. **Pulp and Paper Magazine of Canada**, Westmount, v. 73, n. 8, p. 72-77, 1972.

QUEIROZ, S. C. S. et al. Influência da densidade básica da madeira na qualidade da polpa kraft de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden x *Eucalyptus urophylla* s. T. Blake. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 6, p. 901-909, Nov./Dec. 2004.

RAVEN, J. A.; EVANS, M. C. W.; KORB, R. E. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 60, n. 2, p.111-149, May 1999.

REIS, D.; VIAN, B. Helicoidal pattern in secondary cell walls and possible role of xylansin their construction. **Comptes Rendus Biologies**, Paris, v. 327, n. 9-10, p. 785-790, Sept./Oct. 2004.

RUELLE, J. et al. Peculiar tension wood structure in *Laetia procera* (Poepp.) Eichl. (Flacourtiaceae). **Trees**, Berlin, v. 21, n. 3, p. 345-355, 2007.

SCHIMLECK, L.; EVANS, R.; ILIC, J. Application of near infrared spectroscopy to the extracted wood of a diverse range of species. **IAWA Journal**, Utrecht, v. 24, n. 4, p. 429-438, 2003.

WARDROP, A. B. The organisation and properties of the outer layer of the secondary wall in conifer tracheids. **Holzforschung**, Berlin, v. 11, p. 102-110, 1957.

WARDROP, A. B.; PRESTON, R. D. Organisation of the cell walls of tracheids and wood fibres. **Nature**, London, v. 160, p. 911-913, Dec. 1947.

WATSON, A. J.; DADSWELL, H. E. Papermaking properties of compression wood from *Pinus radiata*. **Appita Journal**, Hobart, v. 11, p. 56-70, 1957.