

## **Medidas das fibras das madeiras de eucalipto obtidas em lâminas histológicas do plano transversal**

Jordão Cabral Moulin<sup>1</sup>, Tatiana de Fátima Martins Pires<sup>1</sup>, Katherine Rodrigues Breder<sup>1</sup>, Ana Carolina de Oliveira Cruz<sup>1</sup>, Renata Guilherme Cândido da Silva<sup>1</sup>

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

**Resumo:** As medições nas fibras são comumente realizadas de forma individualizadas, mas existe a possibilidade de realização em lâminas histológicas. O objetivo foi verificar a diferença das medidas tomadas no plano transversal de lâminas histológicas de eucalipto em relação às fibras individualizadas, como também a correlação entre ambas. Foram confeccionadas lâminas histológicas de eucalipto e do mesmo corpo de prova foi feita a maceração para a individualização das fibras, onde foram realizadas as medições nos dois materiais. O diâmetro do lume das fibras foi igual quando medidas em plano transversal e fibras individualizadas, a largura e espessura da parede celular foram menores quando medidas na lâmina histológica. Contudo, houve correlação significativa entre as medidas dos dois métodos. Conclui-se que, para a caracterização das fibras as medidas feitas em plano transversal não é a indicada, mas pode ser utilizada em casos específicos devido sua positiva correlação com o método tradicional.

**Palavras-chave:** Mensuração, Correlação de métodos, Células de sustentação.

## **Measurements of eucalyptus wood fibers obtained from histological slides in the transverse plane**

**Abstract:** Measurements on fibers are commonly conducted individually, but there is also the possibility of performing them on histological slides. The objective was to verify the differences between measurements taken on the transverse plane of eucalyptus histological slides compared to individualized fibers, as well as the correlation between both. Histological slides of eucalyptus were prepared, and from the same sample, maceration was performed to individualize the fibers, with measurements taken on both materials. The lumen diameter of the fibers was identical when measured on the transverse plane and on individualized fibers, whereas the width and thickness of the cell wall were smaller when measured on the histological slide. However, there was a significant correlation between the measurements obtained by both methods. It is concluded that, for fiber characterization, measurements taken on the transverse plane are not recommended but can be used in specific cases due to their positive correlation with the traditional method.

**Keywords:** Measurement, Correlation of methods, Supporting cells.

## 1. INTRODUÇÃO

O tecido lenhoso da madeira é formado por elementos celulares que possuem funções particulares para manter a vivência e crescimento das árvores. Nas folhosas a variabilidade de tais elementos é maior, visto que a sustentação do fuste é realizada por espessas paredes celulares das fibras, quando comparadas com as outras células. O armazenamento e transporte de substâncias nutritivas é feita pelas poliédricas células de parênquima que possuem fina espessura de parede celular e não lignificada. A condução ascendente de água ocorre pelos elementos lignocelulósicos conhecidos como vasos e/ou poros (Kollmann; Côté, 1968).

Os elementos anatômicos da madeira podem variar em arranjo, dimensão e tipo nas diferentes espécies florestais existentes. Além disso, tem-se a variabilidade imposta pelo ambiente em interação com a adaptabilidade da espécie (Geng *et al.*, 2018). Devido as variações das dimensões das células são necessárias muitas medições como repetições para caracterização do lenho, que de acordo com a International Association of Wood – IAWA (1989), é necessário realizar 25 medições das características das fibras em microscópio óptico. Já no artigo de Scholz *et al.* (2013) é recomendada a realização de 50 medições, ressaltando que são referentes as medidas de comprimento, largura, diâmetro do lume e espessura da parede celular.

As medições nas fibras são comumente realizadas após a individualização das fibras pelo processo de maceração, contudo, também existam medições de largura da fibra, diâmetro do lume e espessura da parede celular a partir de lâminas histológicas do plano transversal (Yahya *et al.*, 2011; Yahya *et al.*, 2015; Abreu Neto *et al.*, 2020; Moulin *et al.*, 2022). Pelo método tradicional ou por maceração para individualização das fibras, as medições são realizadas na região central ao longo do comprimento, visto que é a região que irá possuir as maiores dimensões de largura e espessura de parede celular (Yahya *et al.*, 2015).

O objetivo do trabalho foi analisar os resultados das medições das fibras feitas no plano transversal a partir de lâminas histológicas de eucalipto para comparar e correlacionar com os resultados provenientes do método tradicional ou individualização das fibras por maceração.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Seleção do material**

As amostras de madeira foram provenientes de plantios da Suzano S.A de três localidades, São Miguel Arcanjo/SP, Nova Viçosa/Bahia e Açailândia/Maranhão. As espécies utilizadas foram *Eucalyptus urophylla* (1), *E. urophylla* (2), *E. grandis x camaldulensis*, *E. grandis x urophylla*, foram respectivamente codificados para A, B, C e D. Todos os clones possuem 6 anos de idade.

### **2.2 Identificação e coleta do material**

As árvores selecionadas para o experimento foram identificadas no local e foi estabelecido um diâmetro médio para seleção e marcação das árvores. Cinco árvores de cada clone foram escolhidas, logo foram derrubadas e submetidas à cubagem rigorosa, onde foram retirados discos na posição correspondente ao DAP (diâmetro à altura do peito), com 2,5 cm de espessura.

Para as análises anatômicas dos discos de cada madeira, foram retiradas a seção radial e da região do alburno foram retirados palitos para a maceração e obtenção das amostras com dimensões de 1,0 x 1,5 x 2,0 cm, nas direções radiais, tangenciais e longitudinais, respectivamente, para confecção de lâminas histológicas.

### **2.3 Análise das fibras por maceração**

Das amostras foi realizado o processo de maceração, que é o processo de retirar pequenos “palitos” de madeira, no plano radial. Os palitos foram dispostos em frascos de 25 mL, em solução de ácido acético e peróxido de hidrogênio (1:1), posteriormente levados para estufa em temperatura de 60°C, durante 48 horas, conforme procedimentos propostos por Nicholls e Dadswell, descrito por Ramalho (1987). Após o tempo de 48 horas, a solução foi removida e o material colorido com safranina 1%, objetivando auxiliar na observação e medição das fibras no microscópio.

Durante o preparo das lâminas para visualização das fibras, foram retiradas pequenas amostras do material mais fino, com auxílio de uma pinça de alça e

colocada sobre lâmina previamente preparada com uma gota de glicerina para evitar sobreposição das fibras. Com a utilização do microscópio Zeiss Axiostar plus e do programa ImageView, em cada amostra, foram feitas 30 medições de diâmetro do lume e largura da fibra. A espessura da parede foi determinada pela diferença entre a largura da fibra e o diâmetro do lume dividido por 2.

## **2.4 Análise das fibras em lâmina histológica**

As amostras foram amolecidas em água à ebulição e em seguida fixados em micrótomo de deslize, modelo Leica SM 2000R, para obtenção de cortes de espessura médias de 20 µm do plano transversal, e em seguida, foi realizado o processo de retirada da coloração do material. A retirada da coloração foi feita por meio da utilização de hipoclorito de sódio 60% aquecido. Após aquecimento, a solução foi colocada sobre o material por 5 minutos e, posteriormente, ocorreu a lavagem do material com água. Depois desse processo, foi feita a coloração do material com safranina, onde retirou-se o excesso do corante com álcool 80% e 20% e posteriormente foram montados em lâminas histológicas temporárias, com uso de glicerina e água.

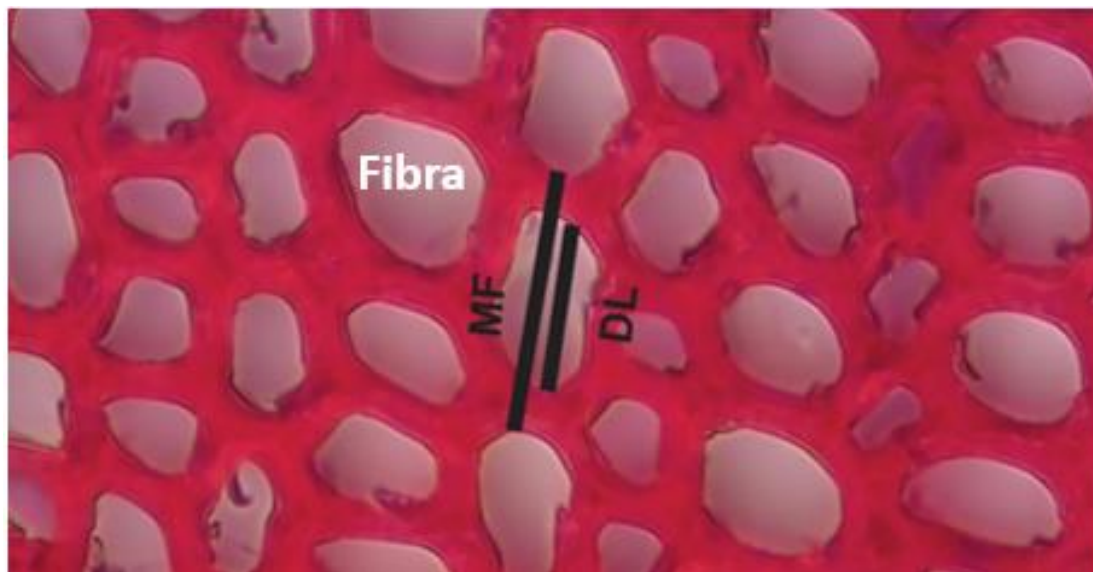
As medições das fibras no plano transversal foram realizadas em microscópio com aumento de 400x, sendo medidas 50 fibras (repetição) (Yahya *et al.* 2015). Para calcular a largura e espessura da parede seguiu o método de Abreu Neto *et al.* (2020), sendo utilizada a medição do diâmetro do lúmen (DL) e a medição para cálculos da espessura da parede e espessura da fibra (MF), conforme as equações 1 e 2.

$$EP = \frac{(MF - DL)}{4} \quad (1)$$

$$LF = DL + 2 \times EP \quad (2)$$

Onde EP é a espessura da parede celular (µm), MF é a medição para cálculos da espessura da parede e espessura da fibra (µm), DL é o diâmetro do lúmen (µm) e LF é a largura da fibra (µm).

**Figura 1.** Medição da fibra na lâmina histológica.



Fonte: (Autor)

## 2.5 Análise estatística

Os resultados das medições nos dois métodos foram comparados pela análise de variância ( $p > 0,05$ ) e quando significativo foi aplicado o teste de Tukey a 5% de significância. A correlação de Pearson foi empregada para análise dos resultados.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As dimensões de largura, diâmetro do lume e espessura da parede celular das fibras provenientes dos dois métodos de mensuração nas diferentes espécies de eucaliptos plantados em distintos locais são apresentados na Tabela 1. O diâmetro do lume das fibras foi igual entre os dois métodos analisados para todas espécies de eucalipto e local de plantio, ao contrário da largura e espessura da parede celular das fibras.

A largura e espessura da parede celular da fibra foi inferior quando medidas na lâmina histológica. Yahya *et al.* (2015) analisaram a espessura da parede celular das fibras de *Acacia mangium* em diferentes posições longitudinais e constataram que na região central houve o maior valor desta dimensão. Isso explica a razão de a espessura da parede celular ser maior quando medida nas fibras individualizadas, as medições são feitas na posição central da fibra individualizada em relação ao seu



comprimento, ao contrário quando as medidas são tomadas na lâmina histológica, onde a posição longitudinal da fibra não é focada e a mensuração da largura e espessura da parede celular é tomada em posições variadas da fibra.

As medições de largura da fibra, diâmetro do lume e espessura da parede celular a partir de lâminas histológicas do plano transversal já foram realizadas em alguns estudos, como no de Yahya *et al.* (2011), Yahya *et al.* (2015), Abreu Neto *et al.* (2020) e Moulin *et al.* (2022). Contudo, no presente estudo foi verificado que a medição no plano transversal não é o melhor indicado para caracterizar as dimensões das fibras da madeira, o mais usado é o método pela fibra individualizada como proposto na IAWA (1989).

**Tabela 1.** Dimensões das fibras das diferentes espécies de eucaliptos plantados em três localidades, obtidas a partir de lâminas histológicas (LH) e de fibras individualizadas (FI)

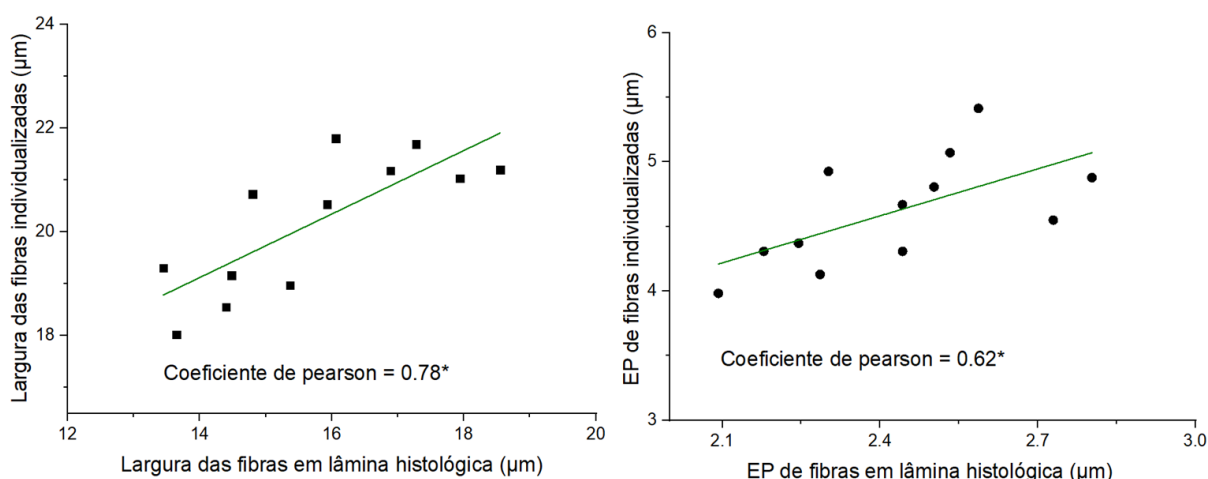
Local	Método de medição	Largura da fibra (µm)				Diâmetro do lume (µm)				Espessura da parede celular (µm)			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
BA	LH	13,45 b	17,28 b	16,89 b	15,93 b	9,10 a	11,68 a	12,32 a	10,66 a	2,44 b	2,80 b	2,29 b	2,30 b
	FI	19,30 a	21,69 a	21,18 a	20,53 a	9,96 a	11,93 a	12,93 a	10,68 a	4,66 a	4,88 a	4,13 a	4,93 a
SP	LH	15,37 b	18,55 b	17,94 b	14,40 b	10,48 a	13,09 a	13,75 a	9,97 a	2,44 b	2,73 b	2,09 b	2,24 b
	FI	18,97 a	21,20 a	21,03 a	18,55 a	10,35 a	12,10 a	13,07 a	9,81 a	4,30 a	4,55 a	3,98 a	4,37 a
MA	LH	14,48 b	14,80 b	16,06 b	13,65 b	9,41 a	9,62 a	11,06 a	8,89 a	2,53 b	2,59 b	2,50 b	2,18 b
	FI	19,16 a	20,73 a	21,80 a	18,02 a	9,01 a	9,90 a	12,19 a	9,38 a	5,07 a	5,41 a	4,81 a	4,30 a

Médias seguidas pela mesma letra dentro de cada método de medição em coluna, não diferiu estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.  
A: *E. urophylla* (1), B: *E. urophylla* (2), C: *E. grandis* x *camaldulensis*, D: *E. grandis* x *urophylla*.

Como as medidas das larguras e espessura da parede celular das fibras foram inferiores no plano transversal, foi investigada a correlação entre as medidas dos dois métodos. Significativa correlação foi encontrada entre os métodos, visto que a correlação de Pearson entre a largura das fibras de acordo com os métodos foi de 0,78 e a espessura da parede celular foi de 0,62.

Embora as medidas tomadas em plano transversal não foram as mais indicadas para caracterização das dimensões das fibras, a sua correlação significativa com as medidas das fibras individualizadas torna possível o uso dessa metodologia para outras situações, como um geoindicador das características das fibras em relação aos outros elementos anatômicos, como no estudo de Takata *et al.* (2019).

**Figura 2.** Correlação entre largura das fibras e espessura da parede celular das fibras obtidas no plano transversal e em fibras individualizadas.



\*Indica correlação significativa. EP: espessura da parede celular.

Fonte: (Autor)

#### 4. CONCLUSÃO

Pode concluir-se com a realização deste trabalho que:

- As medidas do diâmetro do lume das fibras obtidas no plano transversal foram iguais às obtidas nas fibras individualizadas;
- A largura e espessura da parede celular das fibras obtidas em plano transversal foram inferiores, demonstrando que não é a melhor opção para a caracterização das dimensões das fibras.



- Correlação significativa foi encontrada para as medidas obtidas em fibras no plano transversal e individualizadas, ratificando a possibilidade do uso desse método de medição para ocasionais específicas.

## 5. REFERÊNCIAS

ABREU NETO, R.; LIMA, J. T.; TAKARADA, L. M. *et al.* Effect of thermal treatment on fiber morphology in wood pyrolysis. **Wood Sci. Technol**, v. 55, p. 95-108, 2020.

GENG, D.; CHEN, P.; SHEN, X.; *et al.* MdMYB88 and MdMYB124 enhance drought tolerance by modulating root vessels and cell walls in apple. **Plant Physiol**. v. 178, p. 1296-1309, 2018.

KOLLMANN, F. F. P.; CÔTÉ Jr, W. A. **Principles of wood science and technology**. v. 1, Solid wood. Springer Verlag, New York, 1968, p. 592.

IAWA COMMITTEE. International Association of Wood. Anatomists. List of microscope features for hardwood identification. **IAWA Bulletin**, v. 10, n. 3, p. 234-332, 1989.

MOULIN, J.M.; RIBEIRO, D.S.; VIDAURRE, G.B.; *et al.* Effect of drought stress on the formation and lignification of eucalyptus wood cells. **IAWA Journal**. v. 43, n. 3, p. 263-275, 2022.

RAMALHO, R. S. **O uso de macerado no estudo anatômico de madeiras**. Viçosa. UFV. p. 4, 1987.

SCHOLZ, A.; KLEPSCH, M.; KARIMI, K.; *et al.* How to quantify conduits in wood? **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 1-11, 2013.

TAKATA, N.; AWANO, T.; NAKATA, M.T.; *et al.* Os ortólogos Populus NST/SND são reguladores-chave da formação da parede celular secundária em fibras de madeira, fibras de floema e células do parênquima do raio xilema. **Tree Physiol**. v. 39, n. 4, p. 514-525, 2019.

YAHYA, R.; KOZE, K.; SUGIYAMA, J. Fibre length in relation to the distance from vessels in contact with rays in *Acacia mangium*. **IAWA Journal**. v. 32, p. 341-350, 2011.

YAHYA, R.; SUNDARYONO, A.; IMAI, T.; *et al.* Distance from vessels changes fibre morphology in *Acacia mangium*. **IAWA Journal**, v. 36, n. 1, p. 36-43, 2015.