



Inovações em pesquisas agrárias e ambientais

Volume VII

Alan Mario Zuffo
Jorge González Aguilera
Bruno Rodrigues de Oliveira
Organizadores

Alan Mario Zuffo
Jorge González Aguilera
Bruno Rodrigues de Oliveira
Organizadores

**Inovações em pesquisas agrárias e
ambientais**
Volume VII



Pantanal Editora

2025

Copyright© Pantanal Editora

Editor Chefe: Dr. Alan Mario Zuffo

Editores Executivos: Dr. Jorge González Aguilera e Dr. Bruno Rodrigues de Oliveira

Diagramação: A editora. **Diagramação e Arte:** A editora. **Imagens de capa e contracapa:** Canva.com. **Revisão:** O(s) autor(es), organizador(es) e a editora.

Conselho Editorial

Grau acadêmico e Nome

Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos
Profa. MSc. Adriana Flávia Neu
Profa. Dra. Albys Ferrer Dubois
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior
Profa. MSc. Aris Verdecia Peña
Profa. Arisleidis Chapman Verdecia
Prof. Dr. Arinaldo Pereira da Silva
Prof. Dr. Bruno Gomes de Araújo
Prof. Dr. Caio Cesar Enside de Abreu
Prof. Dr. Carlos Nick
Prof. Dr. Claudio Silveira Maia
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos
Prof. Dr. Cristiano Pereira da Silva
Profa. Ma. Dayse Rodrigues dos Santos
Prof. MSc. David Chacon Alvarez
Prof. Dr. Denis Silva Nogueira
Profa. Dra. Denise Silva Nogueira
Profa. Dra. Dennyura Oliveira Galvão
Prof. Dr. Elias Rocha Gonçalves
Prof. Me. Ernane Rosa Martins
Prof. Dr. Fábio Steiner
Prof. Dr. Fabiano dos Santos Souza
Prof. Dr. Gabriel Andres Tafur Gomez
Prof. Dr. Hebert Hernán Soto Gonzáles
Prof. Dr. Hudson do Vale de Oliveira
Prof. MSc. Javier Revilla Armesto
Prof. MSc. João Camilo Sevilla
Prof. Dr. José Luis Soto Gonzales
Prof. Dr. Julio Cezar Uzinski
Prof. MSc. Lucas R. Oliveira
Prof. Dr. Luciano Façanha Marques
Profa. Dra. Keyla Christina Almeida Portela
Prof. Dr. Leandro Argentel-Martínez
Profa. MSc. Lidiene Jaqueline de Souza Costa Marchesan
Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann
Prof. MSc. Marcos Pisarski Júnior
Prof. Dr. Marcos Pereira dos Santos
Prof. Dr. Mario Rodrigo Esparza Mantilla
Profa. MSc. Mary Jose Almeida Pereira
Profa. MSc. Núbia Flávia Oliveira Mendes
Profa. MSc. Nila Luciana Vilhena Madureira
Profa. Dra. Patrícia Maurer
Profa. Dra. Queila Pahim da Silva
Prof. Dr. Rafael Chapman Auty
Prof. Dr. Rafael Felipe Ratke
Prof. Dr. Raphael Reis da Silva
Prof. Dr. Renato Jaqueto Goes
Prof. Dr. Ricardo Alves de Araújo (*In Memoriam*)
Profa. Dra. Sylvana Karla da Silva de Lemos Santos
Prof. Dr. Tayronne de Almeida Rodrigues
Prof. Dr. Ugur Azizoglu
Prof. Dr. Wéverson Lima Fonseca
Prof. MSc. Wesclen Vilar Nogueira
Profa. Dra. Yilan Fung Boix
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme

Instituição

OAB/PB
Mun. Faxinal Soturno e Tupanciretã
UO (Cuba)
IF SUDESTE MG
Facultad de Medicina (Cuba)
ISCM (Cuba)
UFESSPA
UEA
UNEMAT
UFV
AJES
UFGD
UEMS
IFPA
UNICENTRO
IFMT
UFMG
URCA
ISEPAM-FAETEC
IFG
UEMS
UFF
(Colômbia)
UNAM (Peru)
IFRR
UCG (México)
Rede Municipal de Niterói (RJ)
UNMSM (Peru)
UFMT
SED Mato Grosso do Sul
UEMA
IFPR
Tec-NM (México)
Consultório em Santa Maria
UFJF
UEG
FAQ
UNAM (Peru)
SEDUC/PA
IFB
IFPA
UNIPAMPA
IFB
UO (Cuba)
UFMS
UFPI
UFG
UEMA
IFB
Sec. Mun. de Educação, Cultura e Tecnologia de Araripe
Universidade Kayseri, Türkiye
UFPI
FURG
UO (Cuba)
UFT

Conselho Técnico Científico
- Esp. Joacir Mário Zuffo Júnior
- Esp. Maurício Amormino Júnior
- Lda. Rosalina Eufrausino Lustosa Zuffo

Ficha Catalográfica

Catalogação na publicação
Elaborada por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

158

Inovações em pesquisas agrárias e ambientais - Volume VII / Organização de Alan Mario Zuffo, Jorge González Aguilera, Bruno Rodrigues de Oliveira. – Nova Xavantina-MT: Pantanal, 2025.
124p. ; il.

Livro em PDF

ISBN 978-65-85756-60-0

DOI <https://doi.org/10.46420/9786585756600>

1. Ciências agrárias. I. Zuffo, Alan Mario (Organizador). II. Aguilera, Jorge González (Organizador). III. Oliveira, Bruno Rodrigues de (Organizador). IV. Título.

CDD 630

Índice para catálogo sistemático

I. Ciências agrárias



Nossos e-books são de acesso público e gratuito e seu download e compartilhamento são permitidos, mas solicitamos que sejam dados os devidos créditos à Pantanal Editora e também aos organizadores e autores. Entretanto, não é permitida a utilização dos e-books para fins comerciais, exceto com autorização expressa dos autores com a concordância da Pantanal Editora.

Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000.
Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil.
Telefone (66) 99682-4165 (Whatsapp).
<https://www.editorapantanal.com.br>
contato@editorapantanal.com.br

Apresentação

O e-book “Inovações em Pesquisas Agrárias e Ambientais – Volume VI” reúne uma coletânea de trabalhos científicos que refletem os avanços e desafios contemporâneos no campo das ciências agrárias e ambientais, abordando aspectos relacionados à conservação de recursos naturais, manejo de ecossistemas, melhoramento genético, fisiologia vegetal e práticas de produção sustentável.

Os estudos aqui compilados abrangem uma diversidade temática que evidencia a complexidade dos sistemas biológicos e produtivos, e demonstram a aplicação de metodologias rigorosas na investigação de questões relevantes à ciência aplicada. Esta publicação resulta do esforço coletivo de diversos pesquisadores, docentes e discentes, cuja atuação nas diferentes linhas de pesquisa confere a este volume um caráter interdisciplinar e de alta relevância científica. O conjunto dos trabalhos apresentados não apenas avança o conhecimento técnico-científico, mas também propicia subsídios aplicáveis ao desenvolvimento de práticas produtivas sustentáveis, à conservação ambiental e ao aprimoramento dos processos de ensino, pesquisa e extensão universitária.

Desejamos aos leitores que este material contribua para o aprofundamento do conhecimento e para o estímulo de novas investigações no âmbito das ciências agrárias e ambientais.

Os organizadores

Sumário

Apresentação	4
Capítulo 1.....	6
Desempenho de modelos hidrológicos semi-distribuídos no Rio Verde, Minas Gerais	6
Capítulo 2.....	20
Frutos de <i>Muntingia calabura</i> e <i>Psidium guajava</i> na alimentação de macacos-prego no Parque Zoobotânico Leopoldo Linhares Fernandes, Alta Floresta – MT	20
Capítulo 3.....	28
Produção de mudas de <i>Parkia multijuga</i> (Leguminosae) para restauração ecológica do Parque Zoobotânico Leopoldo Linhares Fernandes, Alta Floresta, Mato Grosso.....	28
Capítulo 4.....	36
Avaliação da capacidade germinativa de genótipos de soja submetidos a níveis de salinidade.....	36
Capítulo 5.....	47
Desempenho de Genótipos de Sorgo Forrageiro quanto à Porcentagem de Massa Seca em Condições de Irrigação e Sequeiro.....	47
Capítulo 6.....	55
Sementes de jurema preta submetidas à diferentes métodos de superação de dormência e posterior ciclo de hidratação – desidratação.....	55
Capítulo 7.....	62
Estabilidade de Genes Endógenos para Análises Moleculares em <i>Eucalyptus</i> sob Condições de Estresse	62
Capítulo 8.....	77
Distúrbios Fisiológicos em <i>Eucalyptus</i> : Genes-Chave para Tolerância Nutricional e Hídrica	77
Capítulo 9.....	95
Desempenho de mudas de eucalipto sob influência competitiva de gramíneas forrageiras	95
Capítulo 10	109
Comportamento inicial do eucalipto em plantio consorciado com leguminosas para cobertura do solo	109
Índice Remissivo	123
Sobre os organizadores.....	124

Estabilidade de Genes Endógenos para Análises Moleculares em *Eucalyptus* sob Condições de Estresse

Recebido em: 24/05/2025

Aceito em: 28/05/2025

 10.46420/9786585756600cap7

Any Caroliny Pinto Rodrigues 

Farley Souza Ribeiro Menezes 

Laís Grazielle Silva 

Janaína Fernandes Gonçalves 

Marcelo Luiz de Laia 

INTRODUÇÃO

O Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE) é um dos principais problemas enfrentados em plantios comerciais nas regiões do Maranhão, Norte do Espírito Santo e Sul da Bahia. Desde seus primeiros registros em 2008, essa condição tem causado grande impacto nas florestas e prejuízos significativos ao setor (Câmara et al., 2018; Reis, 2011; Rodrigues, 2013). Os sintomas são caracterizados por uma desordem que compromete o crescimento e a produtividade das árvores, resultando em perdas consideráveis, que podem levar à morte de árvores, tanto isoladas quanto em grandes quantidades.

Acredita-se que a ocorrência dessa doença esteja relacionada a interações entre fatores ambientais adversos (climáticos, nutricionais e edáficos) que, associados ao fator genético da espécie, provocam a perda das características fenotípicas normais da planta, por meio de alterações no metabolismo celular e na expressão gênica. No entanto, a etiologia exata do DFE ainda é desconhecida (Silva et al., 2010; Lourenço, 2016; Mafia, 2017).

A análise da expressão gênica pode ajudar a entender melhor as respostas das plantas a diferentes níveis de estresse. Nesse contexto, uma ferramenta biotecnológica amplamente utilizada para a análise de expressão gênica e quantificação de mRNA é a PCR Quantitativa em Tempo Real de Transcrição Reversa (RT-qPCR). Essa técnica é vantajosa, pois possibilita a quantificação de mRNA de maneira simples, precisa e reprodutível, além de ser útil para a interpretação funcional dos genes e quantificação dos perfis de expressão gênica (Bustin, Benes, Nolan & Pfaffl, 2005; Wong & Medrano, 2005; Oliveira, 2010; Navarro, Serrano-Heras, Castaño & Solera, 2015).

Entretanto, essa ferramenta (RT-qPCR) exige uma série de padronizações para corrigir a variação técnica associada aos diversos passos do processo experimental, como a eficiência na extração de RNA, as diferenças na quantidade inicial da amostra de mRNA, a eficiência enzimática, a integridade e qualidade do RNA, a eficiência na síntese de cDNA e as variações na atividade de transcrição dos tecidos ou células analisados. Essas variações podem ser controladas por meio da normalização dos resultados, utilizando

um conjunto apropriado de genes de referência, também conhecidos como genes endógenos (Ginzinger, 2002; Bustin et al., 2009, 2010).

Genes endógenos são aqueles que apresentam expressão altamente uniforme em uma amostra (célula, tecido, organismo, etc.) durante as várias fases de desenvolvimento e sob diferentes condições ambientais. Um gene de referência ideal deve manter sua expressão constante, independentemente das condições experimentais, dos diferentes tipos de células, estádios de desenvolvimento e/ou tratamentos da amostra. No entanto, nenhum gene exibe uma expressão estável em todos os organismos e em todas as condições experimentais. Assim, a expressão dos genes varia de acordo com a espécie estudada e com as condições experimentais específicas (Dheda et al., 2004; Huggett, Dheda, Bustin & Zumla, 2005; Kozera & Rapacz, 2013).

Diversos estudos sobre a seleção de genes de referência em espécies vegetais para diferentes finalidades já foram realizados para a normalização da expressão gênica por meio da RT-qPCR. Esses estudos incluem pesquisas em coníferas (Granados, Ávila, Cánovas & Cañas, 2016; Wei et al., 2016), teca (Galeano, Vasconcelos, Ramiro, Martín & Carrer, 2014, seringueira (Chao, Yang, Chen & Tian, 2016), eucalipto (Fernández, Villarroel, Balbotín & Valenzuela, 2010; Unnikrishnan, Shankaranarayan & Sharma, 2011; Cassan-Wang et al., 2012; Moura et al., 2012; Sundari & Dasgupta, 2012), café (Goulao, Fortunato & Ramalho, 2012), cana-de-açúcar (Andrade et al., 2017; Huang et al., 2018) e outras espécies (Gutierrez et al., 2011; Ma, He, Wu, Liu & Hu, 2012; Liu et al., 2013; Castonguay, Michaud & Dubé, 2015; He et al., 2017; Liu et al., 2018).

Entretanto, até o momento, não existem relatos sobre a seleção de genes de referência em híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sob condições abióticas de estresse. Além disso, genes que foram anteriormente descritos como normalizadores adequados para algumas espécies de plantas e/ou condições experimentais nem sempre são válidos para outras espécies ou condições de trabalho.

Dessa forma, a escolha de um gene de referência instável pode resultar em erros imprevisíveis na análise da expressão gênica. Portanto, é essencial selecionar e otimizar genes de referência adequados de acordo com o material experimental e a condição de tratamento a fim de melhorar a precisão da análise e interpretação da técnica RT-qPCR (Nolan, Hands & Bustin, 2006; VanGuilder, Vrana & Freeman, 2008; Bustin et al., 2010, Bustin et al., 2013). Assim, o objetivo deste estudo foi selecionar e analisar a estabilidade de genes normalizadores endógenos em híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* afetados pelo Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genética e Biotecnologia Florestal (LGBF), localizado no Departamento de Engenharia Florestal, em parceria com o Laboratório de Biologia Celular e Molecular, situado no Centro Integrado de Pesquisa e Pós-Graduação em Saúde (CIPq-

Saúde). Ambos se encontram localizados na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), no Campus JK, em Diamantina, MG.

Material Vegetal e Coleta das Amostras

O material vegetal analisado (tecido foliar) foi coletado em uma área de plantio florestal de híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* afetados por distúrbios fisiológicos (Figura 1).



Figura 1. Área de ocorrência e sintomatologia ocasionada pelos Distúrbios Fisiológicos do Eucalipto (DFE): deformação de ponteiros, formação de sub-copas, rachaduras na base do tronco, perda de dominância apical e superbrotamento ao longo do tronco. Fonte – Adaptado de: Silva, 2010; Lourenço, 2016; Mafia, 2017.

O tecido foliar das árvores de eucalipto, tanto das que apresentavam quanto das que não apresentavam sintomas da doença, foi coletado das copas e subcopas das plantas. A comparação da expressão gênica foi realizada entre as folhas normais e as anômalas. Para isso, foi feita uma amostragem aleatória simples das árvores, selecionando-se três com sintomas e três sem sintomas. Em cada uma dessas árvores, os tecidos foliares foram coletados em triplicata. Imediatamente após a coleta, as amostras

de tecido foram acondicionadas em recipientes com nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenadas em um freezer a -80 °C, onde permaneceram até o momento da extração do RNA total.

Extração de RNA total

O RNA total das folhas de eucalipto foi extraído utilizando um conjunto de reagentes comercial *RNeasy Plant Mini Kit* (QIAGEN), conforme as instruções do fabricante, e seguindo rigorosamente todos os protocolos rigorosos recomendados para a manipulação de RNA e boas práticas para manipulação em ambiente livre de RNases. O tecido foliar foi previamente macerado em nitrogênio líquido com o auxílio de almofariz e pistilo (ambos descontaminados com solução inibidora de RNases, garantindo a integridade do material durante todo o processo), até a obtenção de um pó fino, mantendo-o congelado durante todo o processo. Aproximadamente 100 mg do material macerado foi transferido para um tubo de polipropileno de 1,5 mL, previamente refrigerado, e seguiu-se rigorosamente às instruções do fabricante.

A integridade e qualidade do RNA foram avaliadas por meio de eletroforese em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo, observando a conservação relativa das frações de RNA ribossômico (28S e 18S). A quantificação e o grau de pureza foram determinados utilizando um espectrofotômetro (ThermoScientific Drop Plate), avaliando amostras por comprimento de onda. Verificou-se se os comprimentos de onda (λ) 260, 280 e 230 nm estavam de acordo com a literatura, bem como se as relações 260/280 e 260/230 eram aceitáveis para amostras de boa qualidade de RNA.

Escolha dos Genes de Referência para Normalização dos Dados

Com base em estudos prévios na literatura, foram selecionados sete candidatos a genes de referência: *EUCONS04*, *EUCONS08*, *EUCONS21*, *IDH*, *SAND*, *EGIDH* e *UBQ* (Boava et al., 2010; Moura et al., 2012; de Oliveira et al., 2012). As sequências, tamanhos e *amplicons* desses *primers* estão disponíveis na Tabela 1.

Tabela 1. Genes de referência cuja estabilidade da expressão gênica foi testada para possível utilização na normalização dos genes de interesse (GOI). Os primers diretos (F) e reversos (R), o tamanho de cada primer em bases (b), a temperatura de desnaturação do primer (T_m), o tamanho do amplicon em pares de bases (pb) e o número de acesso do mRNA do respectivo gene depositado no GenBank (GI) estão apresentados. Fonte: os autores.

Genes de Referência	Sequência dos <i>Primers</i>	Tamanho (b)	T_m (°C)	Amplicon (pb)	GI
EUCONS04	F-TACAAGCGCTGTTGATATGTGGGC	24	66,08	195	XM_010027418
					XM_010027420
	R - TGCCAATGAGGCGGATTACAAAG	24	66,26		XM_010027421
					XM_010027422
EUCONS08	F - TCCAATCCGAGTCGCTGTCATTGT	24	66,80	173	XM_010068769
	R - TGATGAGCCTCTCTGGTTTGACCT	24	65,80		
EUCONS21	F-AGAGGTGAAATTCCAGAAGCCCGT	24	66,57	155	XM_010049323
	R - CTTCCTTTTGGCTTCCGCCAATTA	24	66,07		
IDH	F - AGTTTGAGGCTGCTGGAATC	20	60,81	98	XM_010064015
	R - CTTCGATGCCACACATAAC	20	60,30		
SAND	F - TGGGTCACACAGGATTTTGA	20	59,64	130	XM_010045449
	R - CTCCCAGCAAAAAGATCTCG	20	59,09		
EGIDH	F - TGGAAGTGTGAGTCTGG	18	56,48	60	XM_010064015
	R - TTAGGACCATGAATGAGGAG	20	56,47		
UBQ	F - GAGGGACATCTATCTCTATGAC	22	56,89	132	XM_010071338
	R - CAACAGTAAGCACACGAG	18	56,18		

Ensaios de RT-qPCR

Realizaram-se ensaios preliminares de RT-qPCR para aumentar a eficiência das curvas de amplificação. Foram feitos ajustes nas concentrações de *primer* e de RNA, e diluições seriadas das amostras geraram uma curva padrão, cuja inclinação foi utilizada para determinar a eficiência da amplificação dos genes (Pfaffl, 2001). Após esses ajustes, padronizou-se as quantidades de 400 nM de *primer* e 12,5 ng de RNA total para as amplificações em todos os ensaios. Além dessas modificações, foi alterada também a temperatura e o tempo de síntese da primeira fita de cDNA, incluindo uma etapa para o pareamento dos oligonucleotídeos. Reações de controle (sem RNA – NTC) foram realizadas para confirmar a especificidade do procedimento.

As reações de RT-qPCR foram realizadas em um equipamento *StepOne™ Real-Time PCR System* (Applied Biosystems). O ensaio incluiu três replicatas biológicas (RNA total extraído de três plantas diferentes) e cada réplica biológica constituiu-se por duas replicatas técnicas. Utilizamos o conjunto de reagentes *EXPRESS One-STEP SYBR GreenER Kit, with premixed ROX* (Invitrogen) para as amplificações. Esses reagentes produzem o cDNA e quantificam o transcrito em uma única reação, em um único tubo. Os procedimentos adotados foram os sugeridos pelo fabricante do equipamento e do conjunto de

reagentes, com modificações pontuais. O volume da reação foi de 10 μ L e a quantidade de amostra de RNA total foi de 12,5 ng, previamente ajustados. A etapa de produção de cDNA foi realizada a 45 °C por 30 minutos, seguida por uma etapa de pareamento dos oligonucleotídeos iniciadores a 50 °C por 15 segundos, e, em seguida, a amplificação ocorreu a 60 °C por 1 minuto. Ao final da amplificação, os dados foram pré-analisados pelo software *Step-One Plus* versão 2.3 (*Applied Biosystems*) e exportados para uma planilha eletrônica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade do RNA e dos Primers

A qualidade e a integridade do RNA são fundamentais para análises de expressão gênica. As amostras extraídas foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1% e coradas com brometo de etídeo para visualização e confirmação da integridade do RNA total isolado. A eletroforese em gel de agarose revelou que as bandas ribossomais de 28S e 18S estavam intactas e bem definidas, indicando que o RNA não estava degradado. Também não foi detectada contaminação por gDNA, o que comprova a alta qualidade do RNA (Figura 2).

Para verificar a qualidade e a temperatura de anelamento (T_a) ideal de cada *primer*, foi realizada uma PCR convencional. Os ensaios de PCR realizados para avaliar a especificidade dos oligonucleotídeos iniciadores apresentaram resultados satisfatórios com a amplificação de todos os *primers*, os quais também apresentaram bandas nítidas e bem definidas, variando entre 75 pb e 300 pb, conforme demonstrado na Figura 2. Esses resultados indicaram que não houve produtos inespecíficos ou contaminação na PCR.

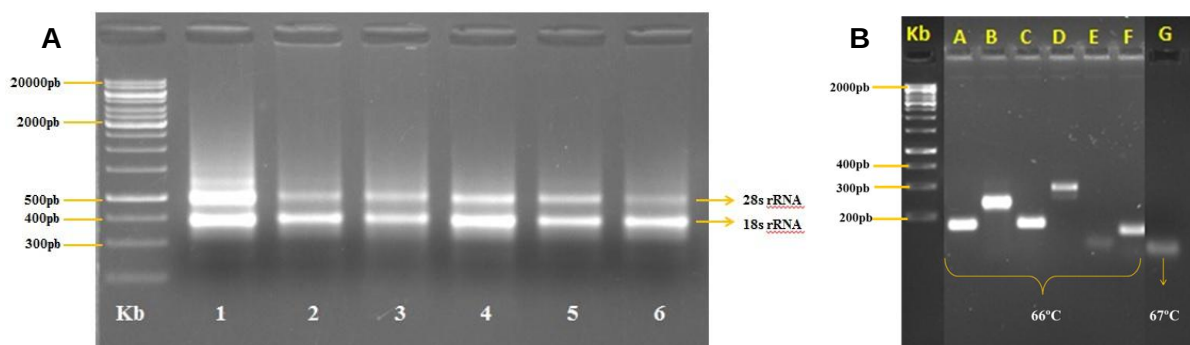


Figura 2. Imagem de gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo contendo a) 06 amostras de RNA total de boa qualidade, apresentando as subunidades 28S e 18S do RNA, extraídas de tecido foliar de eucalipto com distúrbios fisiológicos; e b) indicando a temperatura de pareamento ideal para amplificação por PCR dos genes *EUCONS04* (A), *EUCONS08* (B), *EUCONS21* (C), *IDH* (D), *SAND* (E), *EGIDH* (F) e *UBQ* (G). Na figura, observa-se Kb que indica o uso do marcador de pares de bases (Marcador 1kb DNA Ladder); e pb ao lado de cada número na escada que indica quantos pares de base tem no comprimento do fragmento de DNA. Fonte: os autores.

Com base nos resultados da PCR foi possível determinar a temperatura de pareamento ideal de cada *primer*, sendo de 66 °C para os genes *EUCONS04*, *EUCONS08*, *EUCONS21*, *IDH*, *SAND* e

EGIDH e de 67 °C para o gene *UBQ*. A PCR realizada com essas temperaturas apresentaram resultados satisfatórios para as análises subsequentes.

Eficiência de amplificação na RT-qPCR

Os sete candidatos a genes de referência tiveram suas estabilidades de expressão em híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* testadas, com o objetivo de utilizá-los como normalizadores da expressão em indivíduos com e sem sintomas dos distúrbios fisiológicos.

A análise das curvas de amplificação revelou que todos os *primers* endógenos testados foram considerados ideais, apresentando um padrão adequado de amplificação e resultados satisfatórios. Em média, os valores de *C_q* para todos os genes normalizadores testados variaram entre 18 e 24 (Figura 3).

A concentração ideal foi determinada como sendo de 400 nM para os *primers* e 12,5 ng de RNA. A Figura 3 ilustra os resultados de um ensaio, demonstrando um padrão adequado de amplificação do gene endógeno (*UBQ*) nas concentrações ideais e em diferentes amostras de RNA total de folhas de eucalipto.

Além disso, observou-se a presença de picos únicos nas análises da curva de *melting*, indicando a ausência de dímeros e confirmando a especificidade dos *amplicons*, o que mostra que todos os genes testados amplificaram apenas um fragmento específico.

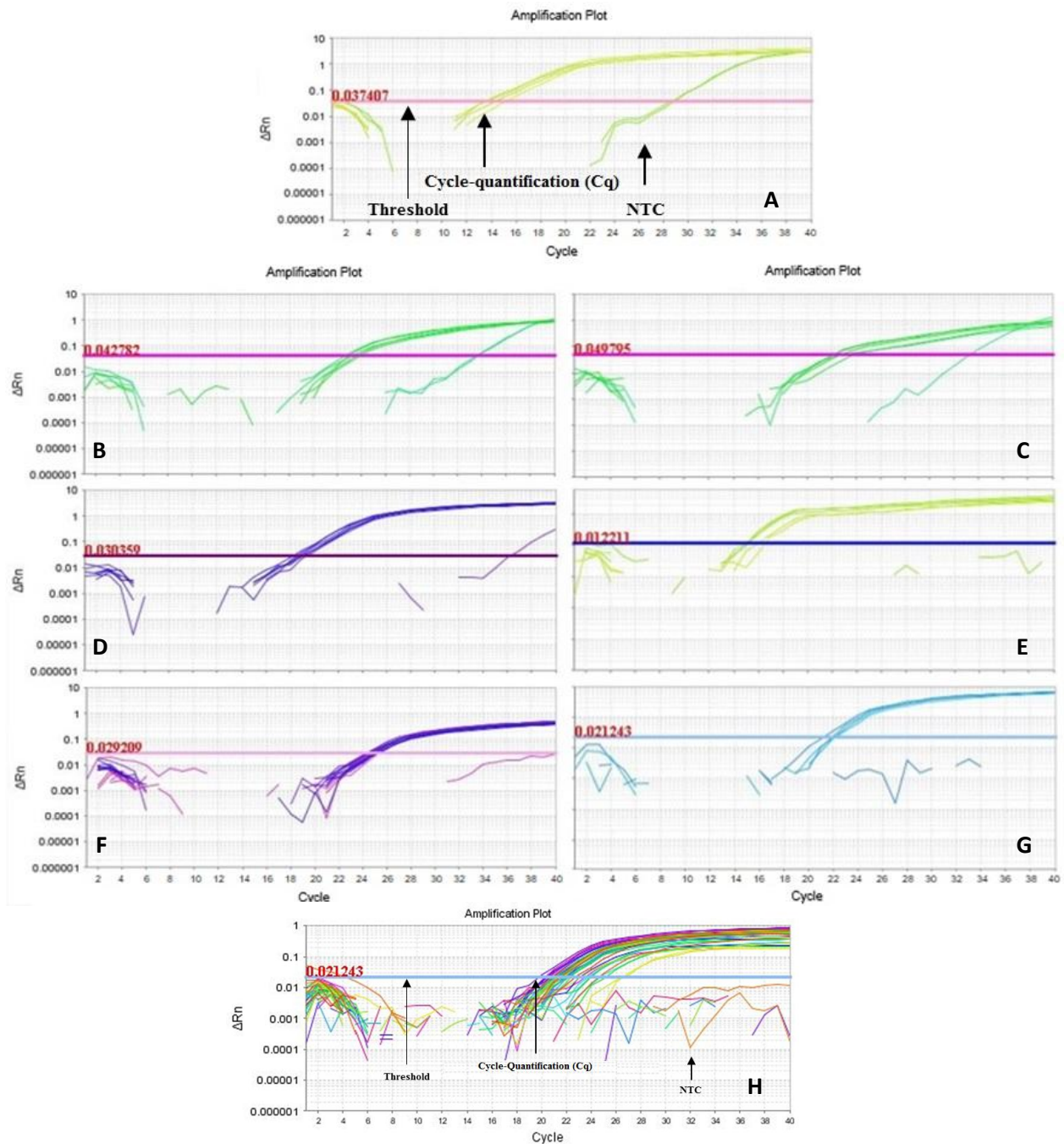


Figura 3. Curvas de amplificação em reações de RT-qPCR, mostrando a eficiência de amplificação dos sete candidatos a genes de referência: A) *EUCONS21*; B) *EUCONS08*; C) *EUCONS04*; D) *IDH*; E) *EGIDH*; F) *SAND*; G) *UBQ*; e H) Padrão de amplificação do gene endógeno *UBQ* em diferentes amostras de RNA total de folhas de eucalipto, evidenciando a eficiência da amplificação. Na figura, observa-se *Threshold*: limiar de detecção da amplificação; *Cycle-quantification (Cq)*: número de ciclos em que a fluorescência ultrapassa o limiar, indicando a detecção da amplificação para uma quantificação precisa e reprodutível; e *NTC*: amostra de controle negativo (sem RNA). Fonte: os autores.

Análise da Estabilidade da Expressão Gênica e Seleção dos Genes de Referência

Os valores do limiar do ciclo Cq (*Cycle-quantification*) foram utilizados para determinar os níveis de expressão dos sete candidatos a genes de referência em todas as amostras. A estabilidade da expressão de todos os genes foi analisada utilizando os algoritmos geNorm (Vandesompele et al., 2002) e NormFinder

(Andersen, Jensen & Orntoft, 2004). Esses algoritmos calcularam a estabilidade de expressão dos genes candidatos e identificaram os genes de referência mais estáveis.

A classificação geral da análise de estabilidade dos genes candidatos a genes de referência pelo algoritmo geNorm indicou que os genes *UBQ* e *IDH* apresentaram a maior estabilidade entre os sete avaliados. Além disso, ao analisar os mesmos dados com o programa geNorm, o NormFinder apontou o gene *UBQ* como tendo a expressão gênica mais estável (Figura 4).

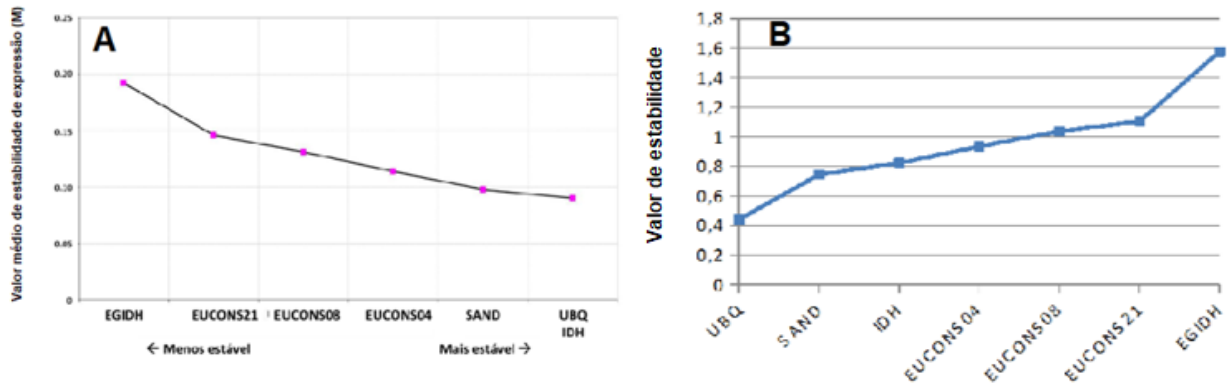


Figura 4. A) Valor médio de estabilidade de expressão (M) calculado pelo programa geNorm para os sete genes candidatos a genes de referência. Os genes *UBQ* e *IDH* foram considerados os mais estáveis, enquanto o gene *EGIDH* foi identificado como o mais variável. B) Estabilidade da expressão gênica (valor de estabilidade) calculado pelo programa NormFinder dos genes de referência *EGIDH*, *EUCONS21*, *EUCONS08*, *EUCONS04*, *SAND*, *UBQ* e *IDH*, conforme avaliação do programa NormFinder. Fonte: os autores.

A utilização de diferentes genes endógenos para a avaliação de dados de expressão gênica é fundamental para aumentar a precisão da análise e fornecer resultados finais confiáveis. Assim, para realizar a análise de expressão gênica por RT-qPCR em tecidos foliares de eucalipto afetados por distúrbios fisiológicos, foram avaliados sete genes de referência comuns a espécies de *Eucalyptus*.

É importante ressaltar que a literatura especializada descreve genes para a normalização da expressão gênica via RT-qPCR. No entanto, a maioria desses estudos se concentra em experimentos bióticos, com poucos relatos voltados para a comparação entre plantas saudáveis e aquelas afetadas por anomalias abióticas.

Para calcular a estabilidade da expressão dos genes candidatos e identificar os genes de referência mais estáveis, foram empregados dois algoritmos estatísticos (geNorm e NormFinder). O geNorm é um programa que indica o gene mais estável, caracterizado por baixa variação entre os genes de referência. O parâmetro utilizado é o valor médio de estabilidade de expressão (*M-value*). Um valor baixo de M indica uma expressão mais estável. Assim, considera-se como gene de maior estabilidade aquele que apresenta o menor valor de M, enquanto o gene com maior valor de M é considerado o mais variável nas condições testadas. Contudo, o geNorm sempre apresentará dois genes como os mais estáveis. A partir dessas

análises, é possível identificar um ou dois genes como mais apropriados para servir como genes de referência (Vandesompele et al., 2002).

Por outro lado, o NormFinder determina o gene mais estável com base no menor valor de estabilidade, calculado a partir da combinação da variação intra e intergrupos. Esse programa gera uma medida de estabilidade em que um valor mais baixo indica maior estabilidade na expressão gênica do respectivo gene; ou seja, quanto mais próximo de zero o valor, maior a estabilidade do gene (Andersen et al., 2004).

De acordo com as análises do geNorm, os genes *UBQ* e *IDH* apresentaram a maior estabilidade entre os sete avaliados. Em contrapartida, os genes *EGIDH*, *EUCONS21*, *EUCONS08*, *EUCONS04* e *SAND* mostraram altos valores de M, indicando que não foram expressos de forma consistente e, portanto, não devem ser utilizados na normalização dos dados (Figura 4).

Ao analisar os mesmos dados com o programa NormFinder foi identificado que o gene *UBQ* possui a expressão gênica mais estável (Figura 4). Além de indicar o gene mais estável, o NormFinder também sugere o par de genes cuja expressão é mais estável em conjunto, neste caso, os genes *UBQ* e *IDH*, conforme indicado pelo geNorm.

Os sete genes candidatos a genes endógenos foram selecionados por terem sido utilizados ou citados como genes de referência em outras abordagens com RT-qPCR (Boava et al., 2010; Moura et al., 2012; Oliveira et al., 2012). Alguns desses estudos também demonstraram que os genes *UBQ* e *IDH* se comportaram como os mais estáveis e foram utilizados como genes de referência, embora em diferentes condições experimentais. Moura et al. (2012), em um estudo com espécies de *Eucalyptus* submetidas a diferentes estresses abióticos, observaram alta estabilidade de expressão para esses mesmos genes. Almeida et al. (2010), ao analisarem a expressão de genes em *E. globulus* durante o enraizamento adventício *in vitro*, detectaram que o gene *IDH* era um dos mais estáveis. Boava et al. (2010), em uma pesquisa com espécies de *Eucalyptus* sob diferentes estresses bióticos e abióticos, verificaram alta estabilidade da transcrição gênica em *UBQ*.

Por outro lado, em um estudo realizado por Martins, Freitas, Máximo e Paiva (2018) com clones de *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla* sob condições de déficit hídrico, o gene *SAND* foi considerado um dos genes de referência mais estáveis. Oliveira et al. (2012) identificaram os genes *EUCONS04*, *EUCONS08* e *EUCONS21* como adequados para a normalização de estudos de expressão no gênero *Eucalyptus*. No entanto, no presente estudo, esses foram os genes com menor estabilidade encontrados. Esse fato corrobora o trabalho de Cassan-Wang et al. (2012), que, ao analisarem a expressão de 21 genes em diversos órgãos e tecidos de *Eucalyptus* em conjuntos experimentais distintos, bem como sob várias condições ambientais e de desenvolvimento, demonstraram que genes frequentemente utilizados como referência podem variar em seu nível de expressão, levando a erros de interpretação nas análises por RT-qPCR. Isso evidencia a necessidade de testar a estabilidade dos genes de referência para cada tipo e condição específica de trabalho.

Assim, com base na integração dos resultados dos dois algoritmos, identificou-se que *UBQ* e *IDH* foram os genes de referência mais estáveis quando todas as amostras foram analisadas em conjunto. Os resultados sugerem que a escolha dos genes de referência ideais deve ser feita de acordo com as diferentes espécies e as condições específicas do experimento. Em suma, não é possível utilizar um gene endógeno apenas com base na literatura; é sempre necessário testar sua estabilidade no experimento em questão. Nesse sentido, é essencial realizar uma normalização adequada para garantir uma quantificação precisa e confiável dos níveis de expressão dos genes alvos (Gutierrez, Giménez, Palomino & Avila, 2011; Guénin et al., 2009; Bustin et al., 2013).

CONCLUSÃO

Neste trabalho, dois programas foram utilizados para investigar a estabilidade de sete genes de referência na normalização da expressão gênica em espécies de *Eucalyptus* sob diversas condições abióticas de estresse. Os dados indicam que *UBQ* e *IDH* são os genes mais estáveis e, portanto, os mais confiáveis para serem utilizados como referência. Uma seleção adequada de genes de referência pode ajudar a minimizar imprecisões na análise da expressão gênica. Assim, os resultados da validação permitirão uma normalização mais precisa e confiável dos resultados de RT-qPCR para futuras análises de transcrição relacionadas ao distúrbio fisiológico desta espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, M. R., Ruedell, C. M., Ricachenevsky, F. K., Sperotto, R. A., Pasquali, G., & Fett-Neto, A. G. (2010). Reference gene selection for quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction normalization during in vitro adventitious rooting in *Eucalyptus globulus* Labill. *BMC Molecular Biology*, 11, 1-12.
- Andersen, C. L., Jensen, J. L., & Ørntoft, T. F. (2004). Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets. *Cancer research*, 64(15), 5245-5250. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0496
- Andrade, L. M., dos Santos Brito, M., Fávero Peixoto Junior, R., Marchiori, P. E. R., Nobile, P. M., Martins, A. P. B., ... & Creste, S. (2017). Reference genes for normalization of qPCR assays in sugarcane plants under water deficit. *Plant methods*, 13, 1-9. DOI: 10.1186/s13007-017-0178-2
- Boava, L. P., Laia, M. L., Jacob, T. R., Dabbas, K. M., Gonçalves, J. F., Ferro, J. A., ... & Furtado, E. L. (2010). Selection of endogenous genes for gene expression studies in *Eucalyptus* under biotic (*Puccinia psidii*) and abiotic (acibenzolar-S-methyl) stresses using RT-qPCR. *BMC research notes*, 3, 1-9.

- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., ... & Vandesompele, J. (2013). The need for transparency and good practices in the qPCR literature. *Nature methods*, 10(11), 1063-1067.
- Bustin, S. A., Benes, V., Nolan, T., & Pfaffl, M. W. (2005). Quantitative real-time RT-PCR—a perspective. *Journal of molecular endocrinology*, 34(3), 597-601. DOI: 10.1677/jme.1.01755
- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., ... & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. DOI: 10.1373/clinchem.2008.112797
- Bustin, S. A., Beaulieu, J. F., Huggett, J., Jaggi, R., Kibenge, F. S., Olsvik, P. A., ... & Toegel, S. (2010). MIQE precis: Practical implementation of minimum standard guidelines for fluorescence-based quantitative real-time PCR experiments. *BMC molecular biology*, 11, 1-5.
- Câmara, A. P., Oliveira, J. T. D. S., Bobadilha, G. D. S., Vidaurre, G. B., Tomazello Filho, M., & Soliman, E. P. (2018). Physiological disorders affecting dendrometric parameters and eucalyptus wood quality for pulping wood. *Cerne*, 24(1), 27-34. DOI: 10.1590/01047760201824012480
- Cassan-Wang, H., Soler, M., Yu, H., Camargo, E. L. O., Carocha, V., Ladouce, N., ... & Grima-Pettenati, J. (2012). Reference genes for high-throughput quantitative reverse transcription–PCR analysis of gene expression in organs and tissues of *Eucalyptus* grown in various environmental conditions. *Plant and Cell Physiology*, 53(12), 2101-2116. DOI: 10.1093/pcp/pcs152
- Castonguay, Y., Michaud, J., & Dubé, M. P. (2015). Reference genes for RT-qPCR analysis of environmentally and developmentally regulated gene expression in alfalfa. *American Journal of Plant Sciences*, 6(1), 132-143. DOI: 10.4236/ajps.2015.61015
- Chao, J., Yang, S., Chen, Y., & Tian, W. M. (2016). Evaluation of reference genes for quantitative real-time PCR analysis of the gene expression in laticifers on the basis of latex flow in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Frontiers in plant science*, 7, 1149. DOI: 10.3389/fpls.2016.01149
- Dheda, K., Huggett, J. F., Bustin, S. A., Johnson, M. A., Rook, G., & Zumla, A. (2004). Validation of housekeeping genes for normalizing RNA expression in real-time PCR. *Biotechniques*, 37(1), 112-119. DOI: 10.2144/04371RR03
- Fernández, M., Villarreal, C., Balbontín, C., & Valenzuela, S. (2010). Validation of reference genes for real-time qRT-PCR normalization during cold acclimation in *Eucalyptus globulus*. *Trees*, 24, 1109-1116. DOI 10.1007/s00468-010-0483-0
- Galeano, E., Vasconcelos, T. S., Ramiro, D. A., De Martin, V. D. F., & Carrer, H. (2014). Identification and validation of quantitative real-time reverse transcription PCR reference genes for gene expression analysis in teak (*Tectona grandis* Lf). *BMC research notes*, 7, 1-13.
- Ginzinger, D. G. (2002). Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hits the mainstream. *Experimental hematology*, 30(6), 503-512. DOI: S0301-472X(02)00806-8

- Goulao, L. F., Fortunato, A. S., & C. Ramalho, J. (2012). Selection of reference genes for normalizing quantitative real-time PCR gene expression data with multiple variables in *Coffea* spp. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30, 741-759. DOI 10.1007/s11105-011-0382-6
- Granados, J. M., Ávila, C., Cánovas, F. M., & Cañas, R. A. (2016). Selection and testing of reference genes for accurate RT-qPCR in adult needles and seedlings of maritime pine. *Tree Genetics & Genomes*, 12, 1-15. DOI 10.1007/s11295-016-1018-7
- Granados, J. M., Ávila, C., Cánovas, F. M., & Cañas, R. A. (2016). Selection and testing of reference genes for accurate RT-qPCR in adult needles and seedlings of maritime pine. *Tree Genetics & Genomes*, 12, 1-15. DOI 10.1007/s11295-016-1018-7
- Guenin, S., Mauriat, M., Pelloux, J., Van Wuytswinkel, O., Bellini, C., & Gutierrez, L. (2009). Normalization of qRT-PCR data: the necessity of adopting a systematic, experimental conditions-specific, validation of references. *Journal of experimental botany*, 60(2), 487-493.
- Gutierrez, N., Giménez, M. J., Palomino, C., & Avila, C. M. (2011). Assessment of candidate reference genes for expression studies in *Vicia faba* L. by real-time quantitative PCR. *Molecular Breeding*, 28, 13-24. DOI: 10.1007/s11032-010-9456-7
- He, M., Cui, S., Yang, X., Mu, G., Chen, H., & Liu, L. (2017). Selection of suitable reference genes for abiotic stress-responsive gene expression studies in peanut by real-time quantitative PCR. *Electronic Journal of Biotechnology*, 28, 76-86. DOI: 10.1016/j.ejbt.2017.05.004
- Huang, N., Ling, H., Liu, F., Su, Y., Su, W., Mao, H., ... & Que, Y. (2018). Identification and evaluation of PCR reference genes for host and pathogen in sugarcane-Sporisorium scitamineum interaction system. *BMC genomics*, 19, 1-13. DOI: 10.1186/s12864-018-4854-z
- Huggett, J., Dheda, K., Bustin, S., & Zumla, A. (2005). Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes & Immunity*, 6(4), 279-284.
- Kozera, B., & Rapacz, M. (2013). Reference genes in real-time PCR. *Journal of applied genetics*, 54, 391-406. DOI: 10.1007/s13353-013-0173-x
- Liu, Z., Cheng, K., Qin, Z., Wu, T., Li, X., Tu, J., ... & Yang, L. (2018). Selection and validation of suitable reference genes for qRT-PCR analysis in pear leaf tissues under distinct training systems. *PloS one*, 13(8), e0202472. DOI: 10.1371/journal.pone.0202472
- Liu, Z., Ge, X. X., Wu, X. M., Kou, S. J., Chai, L. J., & Guo, W. W. (2013). Selection and validation of suitable reference genes for mRNA qRT-PCR analysis using somatic embryogenic cultures, floral and vegetative tissues in citrus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 113, 469-481. DOI: 10.1007/s11240-013-0288-0
- Lourenço, H. M. (2016). Estresses abióticos e seus efeitos na produtividade florestal. In: Simpósio sobre Tecnologias de Produção Florestal.

- Ma, J., He, Y. H., Wu, C. H., Liu, H. P., & Hu, Z. Y. (2012). Cloning and selection of reference genes for gene expression studies in *Ananas comosus*. *African Journal of Biotechnology*, 11(29). DOI: 10.5897/AJB12.111
- Mafia, R. G. (2017). Etiologia e Manejo do Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE). In: II Seminário sobre Sanidade Florestal. Belo Horizonte, Minas Gerais.
- Martins, G. S., Freitas, N. C., Máximo, W. P. F., & Paiva, L. V. (2018). Gene expression in two contrasting hybrid clones of *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus urophylla* grown under water deficit conditions. *Journal of Plant Physiology*, 229, 122-131. DOI: 10.1016/j.jplph.2018.07.007
- Moura, J. C. M. S., Araújo, P., Brito, M. D. S., Souza, U. R., Viana, J. O. F., & Mazzafera, P. (2012). Validation of reference genes from *Eucalyptus* spp. under different stress conditions. *BMC research notes*, 5, 1-10.
- Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M. J., & Solera, J. J. C. C. A. (2015). Real-time PCR detection chemistry. *Clinica chimica acta*, 439, 231-250. DOI: 10.1016/j.cca.2014.10.017
- Nolan, T., Hands, R. E., & Bustin, S. A. (2006). Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nature protocols*, 1(3), 1559-1582.
- Oliveira, T. M. S. (2010). PCR em Tempo Real: Métodos e Aplicações. Dissertação de Mestrado, Universidade de Aveiro, Portugal.
- de Oliveira, L. A., Breton, M. C., Bastolla, F. M., Camargo, S. D. S., Margis, R., Frazzon, J., & Pasquali, G. (2012). Reference genes for the normalization of gene expression in *Eucalyptus* species. *Plant and Cell Physiology*, 53(2), 405-422. DOI: 10.1093/pcp/pcr187
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research*, 29(9), e45-e45. DOI: 10.1093/nar/29.9.e45
- Reis, M. D. S. (2011). A influência dos distúrbios fisiológicos na produtividade da madeira de eucalipto no extremo sul da Bahia. Monografia, Curitiba, Paraná.
- Rodrigues, B. P. (2013). Qualidade do lenho de árvores de clone de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* sob estresse abiótico e o impacto na produção de celulose. Dissertação de Mestrado, Jerônimo Monteiro, Espírito Santo.
- Silva, S. R.; Bazani, J. H.; Vrechi, A.; Gentil, M. G.; Zamprogno-Ferreira, K. C.; Rosse, L. N. (2010). Distúrbios fisiológicos ocasionados pelo estresse hídrico em clones de eucalipto na Veracel: estudo de caso e hipóteses. In: Workshop de melhoramento, 6.; reunião técnica científica do ptsm: adaptação genotípica ao estresse hídrico e térmico, 41., Botucatu, São Paulo.
- Sundari, B. K. R., & Dasgupta, M. G. (2012). Selection and validation of reference genes for real-time qRT-PCR normalization in different tissues of *Eucalyptus tereticornis*. *Silvae Genet*, 61, 280-286. DOI: 10.1515/sg-2012-0035

- Unnikrishnan, B., Shankaranarayan, G. D., & Sharma, N. (2011, September). Selection of reference gene in *Eucalyptus camaldulensis* for real-time qRT-PCR. In BMC Proceedings (Vol. 5, No. Suppl 7, p. P125). London: BioMed Central.
- Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., & Speleman, F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome biology*, 3, 1-12.
- VanGuilder, H. D., Vrana, K. E., & Freeman, W. M. (2008). Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *Biotechniques*, 44(5), 619-626. DOI: 10.2144/000112776
- Wei, Y., Liu, Q., Dong, H., Zhou, Z., Hao, Y., Chen, X., & Xu, L. (2016). Selection of reference genes for real-time quantitative PCR in *Pinus massoniana* post nematode inoculation. *PLoS One*, 11(1), e0147224. DOI: 10.1371/journal.pone.0147224
- Wong, M. L., & Medrano, J. F. (2005). Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques*, 39(1), 75-85. DOI: 10.2144/05391RV01

Índice Remissivo

A

Amazônia, 20, 21, 22, 23, 28, 29, 31

C

Competição vegetal, 121

D

Distúrbios fisiológicos, 76

E

Eucalyptus, 61, 62, 63, 67, 69, 70, 71

Eucalyptus sp, 76, 77

Expressão Gênica, 83

G

Genes endógenos, 62

Genótipos, 39, 41, 42, 46

Germinação, 56

M

Muntingia, 20, 21, 23, 26

N

Normalização, 64

P

Parkia multijuga, 28, 29, 31, 32, 33, 34

Parque, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 34

Plantio consorciado, 107

Porcentagem de massa seca, 49, 50, 51

R

RT-qPCR, 77, 80, 81, 83, 84

S

Semiárido, 53

Soil and Water Assessment Tool (SWAT), 6

V

Variable Infiltration Capacity (VIC), 6, 8

Sobre os organizadores



  **Alan Mario Zuffo**

Engenheiro Agrônomo, graduado em Agronomia (2010) na Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Mestre (2013) em Agronomia - Fitotecnia (Produção Vegetal) na Universidade Federal do Piauí (UFPI). Doutor (2016) em Agronomia - Fitotecnia (Produção Vegetal) na Universidade Federal de Lavras (UFLA). Pós-Doutorado (2018) em Agronomia na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS). Atualmente, possui 237 artigos publicados/aceitos em revistas nacionais e internacionais, 131 resumos simples/expandidos, 86 organizações de e-books, 53 capítulos de e-

books. É editor chefe da Pantanal editora e da Revista Trends in Agricultural and Environmental Sciences, e revisor de 23 revistas nacionais e internacionais. Professor adjunto II na UEMA em Balsas. Contato: alan_zuffo@hotmail.com.



  **Jorge González Aguilera**

Engenheiro Agrônomo, graduado em Agronomia (1996) na Universidad de Granma (UG), Bayamo, Cuba. Especialista em Biotecnologia (2002) pela Universidad de Oriente (UO), Santiago de Cuba, Cuba. Mestre (2007) em Fitotecnia na Universidade Federal do Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil. Doutor (2011) em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Federal do Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil. Pós - Doutorado (2016) em Genética e Melhoramento de Plantas na EMBRAPA Trigo, Rio Grande do Sul, Brasil. Professor Visitante (2018-2022) na Universidade Federal de Mato

Grosso do Sul (UFMS) no campus Chapadão do Sul (CPCS), MS, Brasil. Professor substituto (2023-Atual) na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), Cassilândia, MS, Brasil. Atualmente, possui 159 artigos publicados/aceitos em revistas nacionais e internacionais, 29 resumos simples/expandidos, 64 organizações de e-books, 46 capítulos de e-books. É editor da Pantanal Editora, e da Revista Trends in Agricultural and Environmental Sciences, e revisor de 19 revistas nacionais e internacionais. Contato: j51173@yahoo.com



  **Bruno Rodrigues de Oliveira**

Graduado em Matemática pela UEMS/Cassilândia (2008). Mestrado (2015) e Doutorado (2020) em Engenharia Elétrica pela UNESP/Ilha Solteira. Pós-doutorado pela UFMS/Chapadão do Sul na área de Inteligência Artificial aplicada na Engenharia Florestar/Agronômica. É editor da Pantanal Editora e da Revista Trends in Agricultural and Environmental Sciences e Analista no Tribunal de Justiça de Mato Grosso do Sul. Tem experiência nos temas: Matemática, Processamento de Sinais via Transformada Wavelet, Análise Hierárquica de Processos, Teoria de Aprendizagem de Máquina e Inteligência

Artificial, com ênfase em aplicações nas áreas de Engenharia Biomédica, Ciências Agrárias e Organizações Públicas. Contato: bruno@editorapantanal.com.br



9786585756617



Pantanal Editora

Rua Abaete, 83, Sala B, Centro. CEP: 78690-000

Nova Xavantina – Mato Grosso – Brasil

Telefone (66) 9608-6133 (Whatsapp)

<https://www.editorapantanal.com.br>

contato@editorapantanal.com.br