



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. Leandris Argentele-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

Distúrbios Fisiológicos em *Eucalyptus*: Genes-Chave para Tolerância Nutricional e Hídrica

Recebido em: 25/05/2025

Aceito em: 28/05/2025

 10.46420/9786585756600cap8

Any Caroliny Pinto Rodrigues 

Farley Souza Ribeiro Menezes 

Laís Grazielle Silva 

Janaína Fernandes Gonçalves 

Marcelo Luiz de Laia 

INTRODUÇÃO

Devido à alta produtividade, ao menor tempo de rotação e à boa adaptabilidade das espécies de *Eucalyptus* sp. às diferentes condições de solo e clima, as empresas florestais têm optado por utilizar materiais genéticos clonais de alta produtividade em seus plantios comerciais (IBÁ, 2024). Entretanto, mesmo com o uso adequado das técnicas silviculturais e os avanços dos programas de melhoramento florestal, existem riscos que não podem ser previstos. Esses riscos estão relacionados a condições ambientais adversas (estresses abióticos), como altas temperaturas, déficit ou excesso hídrico, salinidade, geadas, entre outros.

Quando submetidas a estresses, as plantas podem desencadear uma cascata de sinalizações que resultam em mecanismos específicos de adaptação e resistência às condições adversas. Assim, as alterações ambientais exigem das plantas adaptações rápidas e eficientes para garantir sua sobrevivência. No entanto, nem sempre essa adaptação é alcançada, o que pode levar à perda das características fenotípicas normais da planta e à manifestação de doenças abióticas, genericamente denominadas ‘distúrbios fisiológicos’ (Wang, Vinocur & Altman, 2003; Taiz, Zeiger, Møller & Murphy, 2017).

Distúrbios fisiológicos no eucalipto têm sido relatados desde 2007 em plantios comerciais nas regiões Norte do Espírito Santo e Sul da Bahia e, mais recentemente, na região do Maranhão, causando danos significativos à floresta e prejuízos ao setor (Silva et al., 2010; Lourenço, 2016; Mafia, 2017). Os sintomas são descritos como uma desordem que compromete o crescimento e a produtividade das árvores, podendo resultar na morte de árvores isoladas ou em grandes quantidades (Câmara et al., 2018; Reis, 2011; Rodrigues, 2013).

Diversas hipóteses foram levantadas como causas dos distúrbios, incluindo fatores bióticos (agentes patogênicos), problemas de desenvolvimento do sistema radicular e deficiência de nutrientes no solo. No entanto, testes de laboratório e de campo descartaram a ação isolada dessas premissas. Assim, até o momento, as causas dessa doença permanecem desconhecidas (Silva et al., 2010).

Sabe-se que os distúrbios fisiológicos ocorrem devido a interações entre fatores ambientais adversos (climáticos, nutricionais e edáficos) e o genoma do indivíduo. Essa interação provoca perdas das características normais da planta por meio de alterações no metabolismo celular e na expressão gênica, resultando em uma expressão gênica diferencial. Em outras palavras, alguns indivíduos podem não tolerar a pressão dos estresses abióticos, o que altera a expressão de seus genes e provoca modificações fisiológicas, morfológicas e moleculares, refletindo diretamente no crescimento e na produtividade (Cordeiro, 2003; Griffiths, Wessler, Lewontin & Carroll, 2008; Taiz et al., 2017; Laia et al., 2013).

Assim, considera-se que, a partir de estudos da expressão gênica, é possível caracterizar genes cujas expressões foram alteradas, fornecendo informações relevantes que possam indicar as causas dos distúrbios fisiológicos (Cordeiro, 2003; Griffiths et al., 2008). Portanto, o conhecimento sobre os mecanismos de resposta ao estresse em nível molecular é de fundamental importância para entender a fisiologia das plantas e para intervir ou melhorar a tolerância dos híbridos de *Eucalyptus* sp. sob condições adversas. Neste contexto, o objetivo deste estudo é identificar genes responsivos ao distúrbio fisiológico em clones híbridos de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* por meio da técnica de PCR *Quantitativa em Tempo Real de Transcrição Reversa* (RT-qPCR).

MATERIAL E MÉTODOS

Este 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 na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Campus JK, Diamantina, MG.

Caracterização do Ambiente

Os ambientes onde foram realizadas as coletas do material para este estudo foram identificados como: A1 (Ambiente 1) – Unidade de Solo do tipo argissolo amarelo (PAd2.1), Município de Porto Seguro, Classe de precipitação entre 1350 e 1400 mm, genótipo híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* com sintomas ou sem sintomas; A2 (Ambiente 2) – Unidade de Solo do tipo latossolo amarelo (LAdx2.1), Município de Itabela, Classe de precipitação 1300 mm, genótipo híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sem sintomas.

Material Vegetal e Coleta das Amostras

O material vegetal analisado (tecido foliar) foi coletado nos ambientes acima descritos (A1 e A2) que representam 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.

As amostras foram coletadas das copas e subcopas das plantas, sendo a comparação da expressão gênica realizada entre as folhas normais e as anômalas. Para isso, foi feita uma amostragem aleatória simples das árvores. Para cada local foram escolhidas, aleatoriamente, seis árvores: três com sintomas e três sem sintomas, e, em cada uma delas, 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 freezer a -80 °C até o momento da extração do RNA total.

Extração de RNA total

O RNA total das folhas de eucalipto foi extraído utilizando o conjunto de reagentes RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN), seguindo as instruções do fabricante e todos os cuidados necessários para um ambiente livre de RNAses. O tecido foliar foi macerado em nitrogênio líquido, utilizando almofariz e pistilo (devidamente tratados para uso com RNA), 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.

Genes de Interesse e Genes de Referência

Quatro genes (MAPK, PAE2, BOR2 e Aquaporina) envolvidos em respostas a diversos estresses abióticos em plantas foram previamente selecionados com base na literatura, a fim de verificar se a respectiva expressão está associada à ocorrência da anomalia genético-fisiológica. As sequências de nucleotídeos desses quatro genes foram recuperadas do GenBank (Benson et al., 2012) por meio da ferramenta BLASTn (para verificar se os pares de primers eram específicos para um único gene da espécie estudada) e, em seguida, os respectivos primers foram desenhados com o auxílio do programa Primer3Plus versão 2.3.6 (Untergasser et al., 2012), conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Genes de interesse (GOI) cuja expressão gênica foi analisada. Primers direto (F) e reverso (R), tamanho de cada primer em bases (b), temperatura de desnaturação do primer (T_m), tamanho do amplicon em pares de bases (pb) e número de acesso do mRNA do respectivo gene (GOI) depositado no GenBank (GI). Fonte: os autores.

Genes de Referência	Sequência dos Primers	Tamanho (b)	T_m (°C)	Amplicon (pb)	GI
<i>MAPK</i>	F - GAGCAATCGAATCCCAGAAG	20	58,88	145	XM_010066972
	R - GCACAATCAAAGCCTCAACC	20	60,51		
<i>PAE2</i>	F - CCAGCAAGAACGGACTCTTC	20	61,15	70	XM_010045049
	R - AACCATGTGTCTCCTGCCTCTC	20	62,34		
<i>BOR2</i>	F - CCTTCCAATGGTGTGATTCC	20	59,00	105	XM_010029310
	R - ACTATTCCGGGCTGTTGATG	20	60,30		
<i>Aquaporina</i>	F - CAATCCAGCTGTCACTTTCG	20	59,67	117	XM_010064206
	R - ACTTTGAGGAGCAAGCAAGC	20	61,66		

Adicionalmente, foram selecionados sete genes de referência para a normalização dos dados de expressão gênica: EUCONS04, EUCONS08, EUCONS21, IDH, SAND, EGIDH e UBQ (Boava et al.,

2010; Oliveira et al., 2012; Moura et al., 2012). As sequências, tamanhos e amplicons desses primers estão disponíveis na Tabela 2.

Tabela 2. 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 - TGCCAATGAGGCGGATTCACAAG	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 - CTTCCTTTGGCTTCCGCCAATTA	24	66,07		
IDH	F - AGTTTGAGGCTGCTGGAATC	20	60,81	98	XM_010064015
	R - CTTCATGCCACACATAAC	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 melhorar a eficiência das curvas de amplificação. Ajustes nas concentrações de primer e RNA foram feitos e, a partir de diluições seriadas das amostras, gerou-se uma curva padrão cuja inclinação foi utilizada para determinar a eficiência da amplificação dos genes (Pfaffl, 2001). Depois dos ajustes, padronizou-se 400 nM de primer e 12,5 ng de RNA total para todos os ensaios. Além dessas modificações, alteramos a temperatura e o tempo de síntese da primeira fita de cDNA, incluindo uma etapa para pareamento dos oligonucleotídeos. Para confirmar a especificidade do procedimento, realizamos reações de controle (sem RNA – NTC).

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 teve 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 realizam a quantificação do transcrito em uma única

reação, em um único tubo. Os procedimentos seguidos foram os sugeridos pelo fabricante do equipamento e do conjunto de reagentes, com algumas modificações pontuais. O volume da reação foi de 10 µL, com 12,5 ng de RNA total previamente ajustados. A etapa para a produção de cDNA foi realizada a 45 °C por 30 minutos, seguida de uma etapa para pareamento dos oligonucleotídeos iniciadores a 50 °C por 15 segundos, e a amplificação ocorreu a 60 °C por 1 minuto. Ao final da amplificação, os dados foram pré-analisados com o software Step-One Plus versão 2.3 (Applied Biosystems) e exportados para uma planilha eletrônica.

As curvas de amplificação e dissociação geradas pelo sistema foram usadas para análise. Os níveis de expressão foram avaliados com base no número de ciclos de amplificação necessários para atingir um limiar fixo (limiar de ciclo – Cq) na fase exponencial da PCR. A partir dos valores de Cq obtidos, os níveis de expressão gênica das amostras foram mensurados utilizando o cálculo da quantificação relativa (Pfaffl, 2001). As análises estatísticas foram realizadas com o programa GenEX versão 6 da empresa MultiD Analysis. A média das replicatas técnicas foi utilizada nas análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade do RNA e dos Primers

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

A análise espectrofotométrica mostrou que a razão A260/280 das amostras de RNA variou entre 1,8 e 2,2, indicando que o RNA extraído estava livre de contaminantes. Da mesma forma, os valores de A260/230 variaram de 1,6 a 2,1, indicando boa qualidade das amostras de RNA. Assim, as extrações apresentaram boa concentração do RNA total obtido, o que sugere resultados desejáveis.

Para verificar a qualidade e a temperatura de anelamento (Ta) ideal de cada primer, foi realizada uma PCR convencional. Os ensaios de PCR para avaliar a especificidade dos oligonucleotídeos iniciadores apresentaram resultados satisfatórios, onde todos os primers foram amplificados e mostraram bandas nítidas, com faixa variando entre 75 pb a 300 pb (Figura 2), indicando que não foram encontrados produtos inespecíficos ou contaminantes de PCR.

Com os resultados da PCR foi possível determinar a temperatura de pareamento ideal de cada primer, sendo 66 °C para os genes EUCONS04, EUCONS08, EUCONS21, IDH, SAND e EGIDH, e 67 °C para o gene UBQ. A PCR realizada com essas temperaturas apresentou resultados satisfatórios para as análises subsequentes.

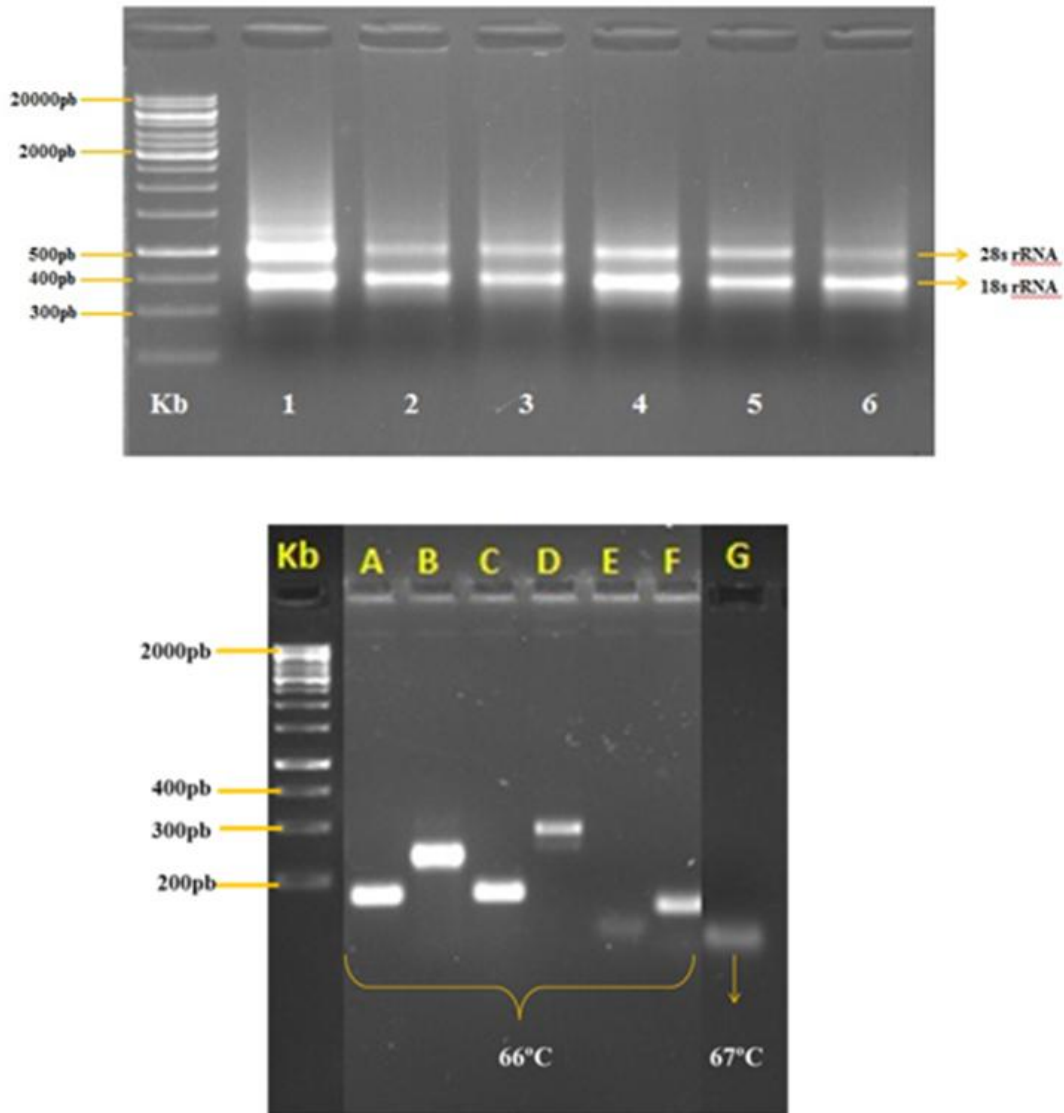


Figura 2. Imagem de gel de agarose a 1% corado com brometo de etídeo contendo a) 06 amostras de RNA total de boa qualidade, apresentando as subunidades 28S e 18S do RNA, extraídas de tecido foliar de eucalipto com distúrbios fisiológicos; e b) indicando a temperatura de pareamento ideal para amplificação 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.

Padrão de amplificação dos genes estudados através da RT-qPCR

Antes de quantificar as amostras, as condições de reação para cada gene foram padronizadas para obter amplificações com bom desempenho, utilizando métodos e ajustes previamente descritos. O material analisado apresentou amplificações a partir de 18 ciclos, com um $C_q = 0,030359$, valor desejável. Em média, os valores de C_q para todos os genes normalizadores testados variaram entre 18 e 24. As reações do controle negativo não mostraram amplificação significativa (Figura 3).

A concentração ideal foi de 400 nM para os *primers* e 12,5 ng de RNA. Foi verificada a presença de picos únicos nas análises da curva de *melting*, indicando a ausência de dímeros e confirmando a especificidade dos *amplicons*, demonstrando que todos os genes testados amplificaram apenas um fragmento específico.

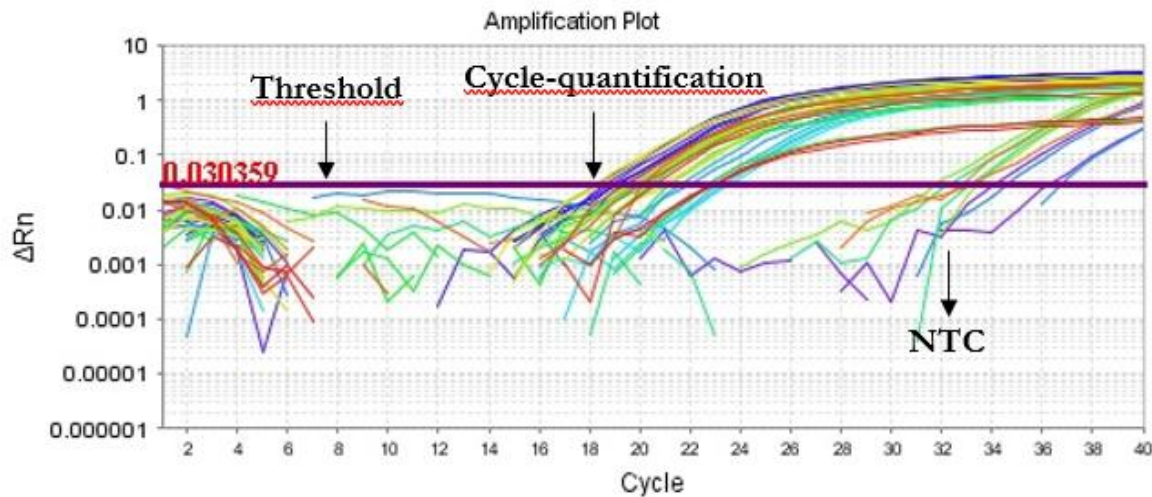


Figura 3. Padrão de amplificação dos genes *BOR2*, *PAE2*, *MAPK* e *Aquaporina* em diversas amostras de RNA total extraídas de tecido foliar de eucalipto, com e sem sintomas do distúrbio. Na figura, observa-se: *Threshold*: limiar de detecção da amplificação; *Cycle-quantification* (Cq): número de ciclos em que a fluorescência ultrapassa o *threshold*, indicando a detecção da amplificação para uma quantificação precisa e reprodutível; e NTC: amostra de controle negativo (sem RNA). Fonte: os autores.

Análise da Expressão Gênica Diferencial

Para verificar se as diferenças de resposta às anomalias são causadas apenas pelo ambiente, exclusivamente pelo genótipo ou por uma interação entre eles, foram realizadas análises cujos resultados estão ilustrados na Figura 4.



Figura 4. Comparação relativa da expressão gênica de quatro genes de interesse (*BOR2*, *PAE2*, *AQUAPORIN* e *MAPK*). O gráfico representa o nível de expressão dos transcritos dos genótipos: C01_A1_CS (genótipo com sintomas no Ambiente 1); C02_A1_SS (genótipo sem sintomas no Ambiente 1); C03_A1_CS (genótipo com sintomas no Ambiente 1); C03_A1_SS (genótipo sem sintomas no Ambiente 1); C03_A2_SS (genótipo sem sintomas no Ambiente 2). Fonte: os autores.

A condição C03_A1_SS foi utilizada como padrão de comparação. Os mesmos clones (C03) foram observados com e sem sintomas em duas condições experimentais, tanto no mesmo ambiente (A1) quanto em um segundo ambiente (A2). Além disso, dois clones distintos foram comparados em um mesmo ambiente (A1). Os resultados da RT-qPCR são apresentados como média e desvio-padrão dos valores do ciclo de quantificação (Cq). Assim, os genes testados mostraram diferentes níveis de expressão nas amostras analisadas, conforme determinado pelo Cq.

Conforme os resultados de expressão gênica obtidos (Figura 4), ao comparar plantas do mesmo genótipo em um mesmo ambiente (C03_A1_CS e C03_A1_SS), observa-se que o gene *BOR2* (*Eucalyptus grandis* boron transporter 1) apresenta expressão similar entre os materiais sadio e doente. O mesmo ocorre com a análise dos demais genótipos (C02_A1_SS e C01_A1_CS), que apresentam poucas diferenças de expressão. No entanto, ao comparar o mesmo genótipo com e sem sintomas em ambientes diferentes (C03_A1_CS e C03_A2_SS), verifica-se que no ambiente A1 o gene foi expressado em níveis significativamente mais altos no material doente. A mesma tendência é observada ao comparar os

genótipos sadios em ambientes diferentes (C03_A1_SS e C03_A2_SS). Isso sugere que o ambiente A1 pode ter características desfavoráveis para este genótipo, comprometendo seu desenvolvimento, enquanto o ambiente A2 pode apresentar condições mais adequadas.

BOR2 é caracterizado como um tipo de transportador de boro (B) localizado na membrana plasmática. Sua função está relacionada com a captação eficiente de B pelas raízes, carregamento e distribuição de B nos órgãos em desenvolvimento das plantas. A expressão de genes que codifica esses transportadores é regulada em resposta à disponibilidade de B no ambiente e eles são requeridos sob limitação de B para uma aquisição e utilização eficiente deste elemento (Takano, Miwa & Fujiwara, 2008; Tanaka et al., 2008; Miwa et al., 2013).

Normalmente, a baixa disponibilidade de água no solo diminui a aquisição de B pelo sistema radicular da planta (Mattiello et al., 2009). Segundo Sgarbi, Silveira, Takahashi e Camargo (1999), a deficiência de B é uma das principais limitações ao crescimento do eucalipto na fase jovem. Estudos realizados por Hodecker et al. (2014) indicam que a ocorrência simultânea da deficiência de B e do déficit hídrico potencializa os sintomas na planta. Em *Eucalyptus urophylla*, observou-se que a expressão do gene *BOR2* foi induzida pela deficiência de B em condições de déficit hídrico, tanto nas folhas quanto nas raízes.

Dessa forma, conclui-se que o transportador *BOR2* é necessário em situações de baixa disponibilidade de B na solução do solo. Esse fato é corroborado por estudos de diversos autores. Reis (2011) avaliou a contribuição do B na transcrição diferencial de genes em um genótipo de eucalipto submetido ao estresse hídrico e verificou que, na ausência de B, a expressão do transportador *BOR2* aumentou. Nunes (2010), ao estudar a expressão gênica em clones de eucalipto influenciados pelo boro e pelo déficit hídrico, constatou maior expressão diferencial dos genes relacionados ao transporte de B (*BOR1* e *BOR2*) em clones cultivados sob restrição hídrica. Nakagawa et al. (2007), em um estudo com espécies de arroz, sugeriram que houve maior expressão de *BOR1* e *BOR2* em condições de deficiência de B. Camacho-Cristóbal et al. (2015) demonstraram que a exposição de mudas de *Arabidopsis* à deficiência de B por quatro horas resultou em uma drástica diminuição na elongação das células das raízes, o que pode potencializar os sintomas do déficit hídrico nas plantas. Essas informações indicam a participação desse gene na tolerância ao déficit hídrico.

O ambiente é um fator importante. Dados sobre os locais (A1 e A2) revelam uma alternância na intensidade de precipitação (Silva et al., 2010) e sugerem um possível déficit hídrico. Assim, a baixa disponibilidade de água no solo diminui a aquisição de B pelo sistema radicular da planta e, se muito intensa, pode ocasionar sintomas em resposta ao estresse, uma vez que a planta ativa os genes necessários para sua sobrevivência em tentativa de adaptação.

Um dos principais sintomas da deficiência de B em eucalipto é a seca dos ponteiros. Como consequência, ocorrem sintomas de superbrotção lateral, dessecação e amarelecimento das folhas, bifurcação do tronco, caules e ramos retorcidos, além de rachaduras na casca (Silveira, Casarin, Paula &

Silveira, 2007). A maioria desses sintomas está presente nas plantas analisadas neste estudo. Portanto, o fato de o gene *BOR2* ter mostrado maior expressão diferencial ao se estudar o mesmo clone em ambientes diferentes e a ativação de expressão em clones do mesmo ambiente sugere que esse gene pode estar relacionado às respostas adaptativas dos genótipos ao estresse ambiental.

Enquanto isso, a Aquaporina (*Eucalyptus grandis* aquaporin TIP2-1) apresentou maior expressão nas plantas com sintomas ao comparar o mesmo genótipo tanto em um mesmo ambiente (C03_A1_CS e C03_A1_SS) quanto em ambientes diferentes (C03_A1_CS e C03_A2_SS), além de quando foram avaliados genótipos diferentes no mesmo ambiente (C02_A1_SS e C01_A1_CS). Isso indica uma maior expressão gênica deste gene nas plantas que apresentaram os sintomas da doença. Ao comparar o mesmo genótipo sadio em ambientes diferentes (C03_A1_SS e C03_A2_SS), observa-se uma expressão diferencial entre os clones, sendo mais baixa no clone inserido no ambiente A2. Isso pode indicar que esse gene é menos necessário nessa condição (A2), sugerindo que esse ambiente pode ser mais adequado para o desenvolvimento desse genótipo (Figura 4).

Aquaporinas (AQPs) são canais proteicos que facilitam o transporte de água, pequenos solutos e gases pelos tecidos internos das folhas durante a transpiração. Além disso, atuam regulando o sistema de transporte de água nas raízes para proteger contra diversos estresses ambientais (Maurel, Verdoucq, Luu & Santoni, 2008; Chaumont & Tyerman, 2014; Groszmann, Osborn & Evans, 2017). Estudos têm mostrado que as AQPs estão presentes em todos os órgãos/tecidos das plantas, com sua expressão regulada por diversos estímulos (Zhang, Wang, Chai, Wen & Zhang, 2008; Heinen, Ye & Chaumont, 2009). O fato de a AQP ter apresentado, em todas as análises, uma maior expressão gênica nas folhas das plantas com sintomas está relacionado à sua tentativa de adaptação. Sob condições normais, os canais de AQPs permanecem abertos. Durante a seca e/ou inundação, sua expressão é induzida, levando ao fechamento dos canais como um mecanismo de proteção contra variações ambientais (Tornroth-Horsefield et al., 2006).

Em situações de déficit hídrico, observa-se nas plantas uma redução na abertura estomática e na transpiração, com o objetivo de diminuir a perda de água (Larcher, 2006; Taiz et al., 2017). Diversos estudos demonstraram um aumento nos níveis de transcritos dos genes AQPs durante o estresse hídrico em várias espécies de plantas, como café (Santos, 2013), milho (Ruiz-Lozano, Alguacil, Bárzana, Vernieri & Aroca, 2009), tabaco (Mahdiah, Mostajeran, Horie & Katsuhara, 2008), arroz (Lian et al., 2004) e *Arabidopsis* (Jang, Kim, Kim, Kim & Kang, 2004), evidenciando que a superexpressão da AQP influencia o crescimento e desenvolvimento das plantas em condições de estresse hídrico.

Diante disso, a análise do perfil de expressão da AQP revelou um acúmulo diferencial desse gene nas folhas de eucalipto com sintomas. Isso destaca a importância das AQPs na manutenção do fluxo coordenado de água durante o crescimento e desenvolvimento de órgãos da planta, reforçando o papel do transporte de água mediado por essas proteínas em resposta a estresses ambientais.

Além disso, pode-se associar que o desequilíbrio hídrico afetou o transporte de boro para as plantas, dificultando a translocação de sais minerais e nutrientes do solo, o que interferiu nos processos fisiológicos. Isso pode ter ocasionado sintomas como superbrotamento, seca de ponteiros, bifurcações, rachaduras no tronco e perda de dominância apical. Considerando a possível deficiência hídrica na área de estudo e o fato de que as AQP's têm sua expressão regulada em condições desfavoráveis, supõe-se que a ativação da expressão dos genes dessa proteína no material doente pode ter sido uma resposta aos estresses abióticos ocorridos no local, combinada com uma possível deficiência de boro e, conseqüentemente, ativação do BOR2.

O gene PAE2 (*Eucalyptus grandis* pectin acetylesterase 10) apresentou um padrão de expressão semelhante em todas as análises. Ao comparar o mesmo genótipo em ambientes iguais (C03_A1_CS e C03_A1_SS) e diferentes (C03_A1_CS e C03_A2_SS), bem como genótipos diferentes no mesmo ambiente (C02_A1_SS e C01_A1_CS), nota-se uma expressão menor no material com sintomas em comparação aos genótipos sem sintomas. A ativação desse gene, mesmo que reprimida, pode ser considerada uma resposta do PAE2 aos estresses.

Neste estudo, observou-se que as plantas sem sintomas apresentaram uma expressão do gene PAE superior à das plantas com sintomas (estressadas). É importante ressaltar que os primers PAE utilizados são específicos para PAE10 (*Eucalyptus grandis* pectin acetylesterase 10), que é a isoforma encontrada no genoma de *E. grandis*. Alguns autores afirmam que a auxina regula a expressão de PAE durante vários eventos de desenvolvimento, como emergência de raízes, formação de raízes adventícias, desenvolvimento de frutos e ramos (Quesada et al., 2009; Osorio et al., 2011; Savatin, Ferrari, Sicilia & Lorenzo, 2011).

Paralelamente, estudos mostram que a pectina desempenha uma função importante na modulação da estrutura da parede celular em resposta ao estresse hídrico, corroborando a ideia de que a pectina é essencial no desenvolvimento e crescimento das plantas (Peaceulle et al., 2008; Wolf & Greiner, 2012). Ao comparar duas variedades de trigo, uma tolerante e outra sensível ao déficit hídrico, constatou-se que a variedade tolerante apresentava um aumento de pectinas em relação à sensível (Piro, Leucci, Waldron & Dalessandro, 2003; Leucci, Lenucci, Piro & Dalessandro, 2008).

Contrastando esses resultados com os observados em eucalipto, supõe-se que as plantas com sintomas, que apresentavam folhas escassas e raízes possivelmente afetadas, teriam uma baixa produção de auxina, resultando em uma menor expressão do gene *PAE10* em condições de déficit hídrico.

O calor também impacta a produção de pectina, com o gene *PAE10* diretamente envolvido em espécies de café (Lima et al., 2013). Temperaturas de 37 °C reduziram a quantidade de pectina na célula em 50% nesta espécie. Assim, infere-se que o déficit hídrico e a temperatura elevada inibem a expressão de *PAE10* em plantas com sintomas da doença em eucalipto.

A expressão gênica do gene *MAPK* (*Eucalyptus grandis* probable serine/threonine-protein kinase) foi maior nas plantas com sintomas ao se avaliar o mesmo genótipo com e sem sintomas, tanto no mesmo

ambiente (C03_A1_CS e C03_A1_SS) quanto em ambientes diferentes (C03_A1_CS e C03_A2_SS). O mesmo padrão de expressão foi observado ao comparar genótipos sadios em ambientes diferentes (C03_A1_SS e C03_A2_SS), indicando uma maior expressão gênica diferencial no material que apresenta sintomas da doença no ambiente A1, sugerindo que esse ambiente apresenta características desfavoráveis para o genótipo, comprometendo seu desenvolvimento. Ao avaliar genótipos diferentes (clones C02 e C01) no mesmo ambiente, observa-se sinalização do *MAPK* em ambos no ambiente A1, corroborando as justificativas anteriores.

As MAPKs são proteínas envolvidas nas vias de sinalização ativadas por diversos estresses bióticos e abióticos em vegetais (Teige et al., 2004; Samajová, Plíhal, Al-yousif, Hirt & Samaj, 2013). A expressão de MAPK sob estresse já foi detectada em diversas espécies. Em milho, os genes da proteína MAPK são induzidos em resposta à falta de água (Shou, Bordallo & Wang, 2004). Jonak, Ökrész, Bögre & Hirt (2002) demonstraram que a sinalização por MAPK é rapidamente ativada em plantas de alfafa com baixa disponibilidade hídrica. Da mesma forma, o déficit hídrico resultou na ativação dos genes *MAPK* em plantas de arroz (Xiong & Yang, 2003; Ning, Li, Hicks & Xiong, 2010). Assim, é possível perceber que as MAPKs interagem com fatores de transcrição de genes envolvidos na regulação da tolerância ao estresse hídrico.

Além do período de déficit hídrico, Silva et al. (2010) relataram elevada incidência de radiação solar na área entre janeiro e maio de 2007, quando ocorreram os sintomas, elevando a temperatura. O aumento acentuado da temperatura gera estresse térmico nas plantas, levando ao fechamento dos estômatos, o que inibe a fotossíntese e prejudica a função das membranas e a estabilidade de proteínas (Taiz et al., 2017). Em estudo recente, Evrard et al. (2013) demonstraram que genes *MAPK* em *Arabidopsis* são ativados em resposta ao estresse térmico. Sangwan & Dhindsa (2002) identificaram a ativação de genes *MAPK* em plantas de alfafa em resposta ao choque térmico. Também na cultura do tomate foi observada a indução de genes dessa proteína devido à alta temperatura (Link et al., 2002).

Portanto, a ativação da cascata de MAPK resulta da expressão de conjuntos específicos de genes em resposta a diversos estímulos ambientais. Essas proteínas desempenham um papel central na resposta das plantas aos diferentes estresses e, por isso, são alvos ideais para o melhoramento e seleção de genótipos superiores tolerantes a esses estresses (Smékalová, Dosckocilová, Komis & Samaj, 2014; Samajová et al., 2013).

CONCLUSÃO

As respostas das plantas às alterações ambientais estão relacionadas à regulação de genes por meio de um processo de sinalização celular, que gera proteínas que protegem a planta contra os efeitos deletérios dos estresses. Essas respostas são complexas e envolvem vários genes que produzem reações ao nível bioquímico, fisiológico e molecular. Nesse sentido, a identificação de genes com papéis nas

respostas aos diferentes estresses abióticos que ocasionaram distúrbios fisiológicos é fundamental para elucidar mecanismos específicos de adaptação e resistência em futuros genótipos.

O presente estudo buscou detectar alterações na expressão gênica em clones híbridos de *Eucalyptus* afetados por distúrbios genético-fisiológicos. Os resultados indicaram que a expressão gênica diferencial observada pode ser decorrente das alterações edafoclimáticas na área. Os dados sugerem que todos os genes estudados (BOR2, PAE2, MAPK e Aquaporina) podem ser indicativos da ocorrência de estresse nas plantas com sintomas. Portanto, pesquisas adicionais são necessárias para melhorar a compreensão dos mecanismos exatos da ação gênica, e outros genes devem ser investigados para isolar completamente as causas dessa doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benson, D. A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Sayers, E. W. (2012). GenBank. Nucleic acids research, 41(D1), D36-D42.
- 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.
- Camacho-Cristóbal, J. J., Martín-Rejano, E. M., Herrera-Rodríguez, M. B., Navarro-Gochicoa, M. T., Rexach, J., & González-Fontes, A. (2015). Boron deficiency inhibits root cell elongation via an ethylene/auxin/ROS-dependent pathway in *Arabidopsis* seedlings. Journal of experimental botany, 66(13), 3831-3840.
- 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.
- Chaumont, F., & Tyerman, S. D. (2014). Aquaporins: highly regulated channels controlling plant water relations. Plant physiology, 164(4), 1600-1618.
- Cordeiro, M. C. R., (2003). Engenharia genética: conceitos básicos, ferramentas e aplicações. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados.
- Evrard, A., Kumar, M., Lecourieux, D., Lucks, J., von Koskull-Döring, P., & Hirt, H. (2013). Regulation of the heat stress response in *Arabidopsis* by MPK6-targeted phosphorylation of the heat stress factor HsfA2. PeerJ, 1, e59.
- Griffiths, A. J., Wessler, S. R., Lewontin, R. C., & Carroll, S. B. (2008). Introdução à genética. In Introdução à genética (pp. 712-712).
- Groszmann, M., Osborn, H. L., & Evans, J. R. (2017). Carbon dioxide and water transport through plant aquaporins. Plant, Cell & Environment, 40(6), 938-961.

- Heinen, R. B., Ye, Q., & Chaumont, F. (2009). Role of aquaporins in leaf physiology. *Journal of experimental botany*, 60(11), 2971-2985.
- Hodecker, B. E. R., De Barros, N. F., Da Silva, I. R., Diola, V., Sarkis, J. E. S., & Loureiro, M. E. (2014). Boron delays dehydration and stimulates root growth in *Eucalyptus urophylla* (Blake, ST) under osmotic stress. *Plant and soil*, 384, 185-199.
- IBÁ: Indústria Brasileira de Árvores. (2024). Relatório Anual 2024.
- Jang, J. Y., Kim, D. G., Kim, Y. O., Kim, J. S., & Kang, H. (2004). An expression analysis of a gene family encoding plasma membrane aquaporins in response to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant molecular biology*, 54, 713-725.
- Jonak, C., Ökrész, L., Bögre, L., & Hirt, H. (2002). Complexity, cross talk and integration of plant MAP kinase signalling. *Current opinion in plant biology*, 5(5), 415-424.
- Laia, M. L.; Gerhardt, I. R.; Abad, J. I. M.; Degenhardt-goldback, J.; Gonçalves, J. F.; Missiaggia, A. A. (2013). A Biotecnologia e o Eucalipto do Futuro. In: Vale, A. B., Machado, C. C., Pires, J. M. M., Vilar, M. B., Costa, C. B., & Nacif, A. P. (Eds). *Eucaliptocultura no Brasil: Silvicultura, manejo e ambiência*. Viçosa: SIF.
- Larcher, W. (2006) *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: RIMA.
- Leucci, M. R., Lenucci, M. S., Piro, G., & Dalessandro, G. (2008). Water stress and cell wall polysaccharides in the apical root zone of wheat cultivars varying in drought tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 165(11), 1168-1180.
- Lian, H. L., Yu, X., Ye, Q., Ding, X. S., Kitagawa, Y., Kwak, S. S., ... & Tang, Z. C. (2004). The role of aquaporin RWC3 in drought avoidance in rice. *Plant and Cell Physiology*, 45(4), 481-489.
- Lima, R. B., dos Santos, T. B., Vieira, L. G. E., Ferrarese, M. D. L. L., Ferrarese-Filho, O., Donatti, L., ... & de Oliveira Petkowicz, C. L. (2013). Heat stress causes alterations in the cell-wall polymers and anatomy of coffee leaves (*Coffea arabica* L.). *Carbohydrate polymers*, 93(1), 135-143.
- Link, V., Sinha, A. K., Vashista, P., Hofmann, M. G., Proels, R. K., Ehness, R., & Roitsch, T. (2002). A heat-activated MAP kinase in tomato: a possible regulator of the heat stress response. *FEBS letters*, 531(2), 179-183.
- Lourenço, H. M. (2016). Estresses abióticos e seus efeitos na produtividade florestal. In: *Simpósio sobre Tecnologias de Produção Florestal*.
- Mafia, R. G. (2017). Etiologia e Manejo do Distúrbio Fisiológico do Eucalipto (DFE). In: *II Seminário sobre Sanidade Florestal*. Belo Horizonte, Minas Gerais.
- Mahdich, M., Mostajeran, A., Horie, T., & Katsuhara, M. (2008). Drought stress alters water relations and expression of PIP-type aquaporin genes in *Nicotiana tabacum* plants. *Plant and Cell Physiology*, 49(5), 801-813.

- Mattiello, E. M., Ruiz, H. A., Silva, I. R. D., Barros, N. F. D., Neves, J. C. L., & Behling, M. (2009). Transporte de boro no solo e sua absorção por eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 33, 1281-1290.
- Maurel, C., Verdoucq, L., Luu, D. T., & Santoni, V. (2008). Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59(1), 595-624.
- Miwa, K., Wakuta, S., Takada, S., Ide, K., Takano, J., Naito, S., ... & Fujiwara, T. (2013). Roles of BOR2, a boron exporter, in cross linking of rhamnogalacturonan II and root elongation under boron limitation in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 163(4), 1699-1709.
- 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.
- Nakagawa, Y., Hanaoka, H., Kobayashi, M., Miyoshi, K., Miwa, K., & Fujiwara, T. (2007). Cell-type specificity of the expression of Os BOR1, a rice efflux boron transporter gene, is regulated in response to boron availability for efficient boron uptake and xylem loading. *The Plant Cell*, 19(8), 2624-2635.
- Ning, J., Li, X., Hicks, L. M., & Xiong, L. (2010). A Raf-like MAPKKK gene DSM1 mediates drought resistance through reactive oxygen species scavenging in rice. *Plant physiology*, 152(2), 876-890.
- Nunes, F. N. (2010). Crescimento e expressão gênica em clones de eucalipto influenciados pelo boro e déficit hídrico. Tese, UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- 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.
- Osorio, S., Alba, R., Damasceno, C. M., Lopez-Casado, G., Lohse, M., Zanor, M. I., ... & Fernie, A. R. (2011). Systems biology of tomato fruit development: combined transcript, protein, and metabolite analysis of tomato transcription factor (nor, rin) and ethylene receptor (Nr) mutants reveals novel regulatory interactions. *Plant Physiology*, 157(1), 405-425.
- Peaucelle, A., Louvet, R., Johansen, J. N., Höfte, H., Laufs, P., Pelloux, J., & Mouille, G. (2008). *Arabidopsis phyllotaxis* is controlled by the methyl-esterification status of cell-wall pectins. *Current Biology*, 18(24), 1943-1948.
- 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](https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45)
- Piro, G., Leucci, M. R., Waldron, K., & Dalessandro, G. (2003). Exposure to water stress causes changes in the biosynthesis of cell wall polysaccharides in roots of wheat cultivars varying in drought tolerance. *Plant Science*, 165(3), 559-569.
- Quesada, M. A., Blanco-Portales, R., Posé, S., García-Gago, J. A., Jiménez-Bermudez, S., Muñoz-Serrano, A., ... & Muñoz-Blanco, J. (2009). Antisense down-regulation of the FaPG1 gene reveals an

- unexpected central role for polygalacturonase in strawberry fruit softening. *Plant Physiology*, 150(2), 1022-1032.
- Reis, B. E. (2011a). Expressão de genes associados à tolerância do eucalipto à seca influenciada pelo Boro. Dissertação, UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Reis, M. D. S. (2011b). A influência dos distúrbios fisiológicos na produtividade da madeira de eucalipto no extremo sul da Bahia. Monografia, UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil.
- Rodrigues, B. P. (2013). Qualidade do lenho de árvores de clone de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* sob estresse abiótico e o impacto na produção de celulose. Dissertação de Mestrado, UFES, Jerônimo Monteiro, Espírito Santo, Brasil.
- Ruiz-Lozano, J. M., del Mar Alguacil, M., Bárzana, G., Vernieri, P., & Aroca, R. (2009). Exogenous ABA accentuates the differences in root hydraulic properties between mycorrhizal and non mycorrhizal maize plants through regulation of PIP aquaporins. *Plant Molecular Biology*, 70, 565-579.
- Samajová, O., Plíhal, O., Al-Yousif, M., Hirt, H., & Samaj, J. (2013). Improvement of stress tolerance in plants by genetic manipulation of mitogen-activated protein kinases. *Biotechnology Advances*, 31(1), 118-128.
- Sangwan, V., & Dhindsa, R. S. (2002). In vivo and in vitro activation of temperature-responsive plant map kinases. *FEBS letters*, 531(3), 561-564.
- Santos, A. B. D., & Mazzafera, P. (2013). Aquaporins and the control of the water status in coffee plants. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25, 79-93.
- Savatin, D. V., Ferrari, S., Sicilia, F., & De Lorenzo, G. (2011). Oligogalacturonide-auxin antagonism does not require posttranscriptional gene silencing or stabilization of auxin response repressors in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 157(3), 1163-1174.
- Sgarbi, F., Silveira, R. L. V. A., Takahashi, E. N., & Camargo, M. D. (1999). Crescimento e produção de biomassa de clone de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* em condições de deficiência de macronutrientes, B e Zn. *Scientia Forestalis*, 56(1), 69-82.
- 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.
- Silveira, R. D. A., Casarin, V., Paula, T. D. A., & Silveira, R. I. (2007). Nutrição e adubação com Boro em *Eucalyptus*. Boletim Técnico). Piracicaba: Agroflorestal.
- Sangwan, V., & Dhindsa, R. S. (2002). In vivo and in vitro activation of temperature-responsive plant map kinases. *FEBS letters*, 531(3), 561-564.
- Shou, H., Bordallo, P., & Wang, K. (2004). Expression of the Nicotiana protein kinase (NPK1) enhanced drought tolerance in transgenic maize. *Journal of experimental Botany*, 55(399), 1013-1019.

- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed Editora.
- Takano, J., Miwa, K., & Fujiwara, T. (2008). Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends in plant science*, 13(8), 451-457.
- Tanaka, M., Wallace, I. S., Takano, J., Roberts, D. M., & Fujiwara, T. (2008). NIP6; 1 is a boric acid channel for preferential transport of boron to growing shoot tissues in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 20(10), 2860-2875.
- Teige, M., Scheikl, E., Eulgem, T., Doczi, R., Ichimura, K., Shinozaki, K., ... & Hirt, H. (2004). The MKK2 pathway mediates cold and salt stress signaling in *Arabidopsis*. *Molecular cell*, 15(1), 141-152.
- Törnroth-Horsefield, S., Wang, Y., Hedfalk, K., Johanson, U., Karlsson, M., Tajkhorshid, E., ... & Kjellbom, P. (2006). Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature*, 439(7077), 688-694.
- Untergrasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., & Rozen, S. G. (2012). Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*.
- Xiong, L., & Yang, Y. (2003). Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase. *The Plant Cell*, 15(3), 745-759.
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14.
- Wolf, S., & Greiner, S. (2012). Growth control by cell wall pectins. *Protoplasma*, 249 (Suppl 2), S169–S175.
- Zhang, Y., Wang, Z., Chai, T., Wen, Z., & Zhang, H. (2008). Indian mustard aquaporin improves drought and heavy-metal resistance in tobacco. *Molecular Biotechnology*, 40, 280-292.

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



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