



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

**LUCIANA FERREIRA DA SILVA**

**CAPACIDADE DE DETERIORAÇÃO DE CEPAS DE *Eucalyptus* spp. POR  
FUNGOS XILÓFAGOS**

**JERÔNIMO MONTEIRO – ES**  
**DEZEMBRO – 2011**

**LUCIANA FERREIRA DA SILVA**

**CAPACIDADE DE DETERIORAÇÃO DE CEPAS DE *Eucalyptus* spp. POR  
FUNGOS XILÓFAGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais, Área de Concentração Ciências Florestais.

Orientador: Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior

Coorientador: Prof. Dr. Juarez Benigno Paes

**JERÔNIMO MONTEIRO – ES  
DEZEMBRO – 2011**

**CAPACIDADE DE DETERIORAÇÃO DE CEPAS DE *Eucalyptus* spp. POR FUNGOS XILOFAGOS**

1.

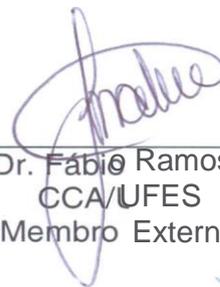
Luciana Ferreira da Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Aprovada em 15 de dezembro de 2011.



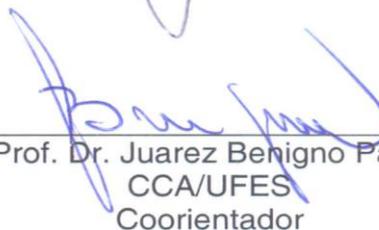
Prof. Dr. Edson Luiz Furtado  
FCA-UNESP Membro  
Externo



Prof. Dr. Fábio Ramos Alves  
CCA/UFES  
Membro Externo



Prof. Dr. José Tarcsio da Silva Oliveira  
CCA/UFES  
Membro Interno



Prof. Dr. Juarez Benigno Paes  
CCA/UFES  
Coorientador



Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior  
CCA/UFES  
Orientador

Dissertação 0041

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Silva, Luciana Ferreira da, 1983-

S586c Capacidade de deterioração de cepas de *Eucalyptus* spp. por fungos xilófagos / Luciana Ferreira da Silva. – 2011.

77 f. : il.

Orientador: Waldir Cintra de Jesus Junior.

Coorientador: Juarez Benigno Paes.

Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Eucalipto. 2. Basidiomicetos. 3. Fungos apodrecedores da madeira. 4. Madeira - Deterioração - Análise. 5. Teste de apodrecimento da Madeira. I. Jesus Junior, Waldir Cintra de. II. Paes, Juarez Benigno. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 630

---

Aos meus pais, Carlos Roberto e Maria José; ao meu esposo José Valber pelo esforço, dedicação e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

## **AGRADECIMENTOS**

Meu maior agradecimento é dirigido primeiramente a Deus, por permitir que tudo acontecesse.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Centro de Ciências Agrárias (CCA), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais (PPGCF), pela oportunidade concedida.

A equipe do Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), localizado no Departamento de Engenharia Florestal (DEF), pertencente a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), localizado em Jerônimo Monteiro Espírito Santo.

À Fibria Celulose S.A. pelo apoio financeiro concedido.

Minha seleção, no âmbito acadêmico, deve também começar do início, sendo assim, agradeço ao professor Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior a consideração de ter aceito a orientação de minha Dissertação, na esperança de retribuir, com a seriedade de meu trabalho, a confiança em mim depositada.

Ao professor Dr. Juarez Benigno Paes, pela co-orientação deste trabalho de dissertação meus agradecimentos pelos ensinamentos, cujos temas foram de fundamental importância para elaboração desse trabalho, por sua permanente presença em todas as fases do projeto, pela sua disponibilidade nos trabalhos de campo, pelo seu incentivo, apoio na elaboração deste trabalho.

Ao professor Dr. José Tarcisio da Silva Oliveira, pelo incentivo na realização deste trabalho e pelas discussões valiosas, conselhos e ensinamentos.

Aos professores participantes da banca examinadora, pelas sugestões e aconselhamentos.

Aos demais professores da Pós-graduação, por suas importantes contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Ao Biólogo Aeliçon Alves, ao Engenheiro Agrônomo Rodrigo José Gonçalves Monteiro e ao Professor Dr. Clóvis Eduardo Nunes Hegedus, por nos permitirem a coleta de materiais em suas fazendas para à execução pesquisa.

Ao Elecy Palácio Constantino, pela ajuda na confecção dos corpos de prova.

Ao José Geraldo Lima de Oliveira, Gilson Barbosa Sao Teago, Jordão Cabral Moulin e demais colegas de laboratório, que direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho atingisse os objetivos propostos.

A Regina Gonçalves dos Santos Oliveira e ao Professor Dr. Celson Rodrigues pela grande ajuda durante a identificação dos fungos.

A meus pais, por terem sido o contínuo apoio em todos estes anos, ensinando-me, principalmente, a importância da construção e coerência de meus próprios valores.

Ao meu esposo, José Valber, companheiro nesta trajetória, soube compreender, como ninguém, a fase pela qual eu estava passando. Durante a realização deste trabalho, sempre tentou entender minhas dificuldades e minhas ausências, procurando se aproximar de mim por meio da própria Dissertação, ajudando durante toda a fase de coleta e montagem do experimento.

A todos os amigos e colegas que de uma forma direta ou indireta, contribuíram, ou auxiliaram na elaboração do presente estudo, pela paciência, atenção e força que prestaram em momentos menos fáceis. Para não correr o risco de não enumerar algum não vou identificar ninguém, aqueles a quem este agradecimento se dirige sabê-lo-ão, desde já os meus agradecimentos.

Não poderia deixar de agradecer à minha família por todo o carinho que sempre me prestaram ao longo de minha vida acadêmica, bem como, à elaboração da presente Dissertação a qual sem o seu apoio, teria sido impossível

Agradeço-lhes, carinhosamente, por tudo isto.

## **BIOGRAFIA**

**Luciana Ferreira da Silva**, filha de Edival Ferreira da Silva e Maria José Ferreira da Silva nasceu em 14 de outubro de 1983, no município de Alegre, Estado do Espírito Santo.

Concluiu o Ensino Médio (2º grau) e o Curso de Técnico Agrícola, na Escola Agrotecnica Federal de Alegre (EAFA), atualmente IFES - Alegre, em 2001.

Obteve o grau de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Alegre (FAFIA) - Alegre - ES, em 2005.

Em 2009 recebeu o Título de Engenheira Agrônoma da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

No ano de 2011 concluiu a Pós-Graduação em Educação, Governança e Direito Ambiental: A Gestão dos Espaços Antropizados pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Alegre (FAFIA).

Em 2009 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais em nível de Mestrado em Ciências Florestais da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) - Jerônimo Monteiro- ES, submetendo-se à defesa de Dissertação em 15 dezembro de 2011.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. OBJETIVOS .....	3
1.1.1. <b>Objetivo geral</b> .....	3
1.1.2. <b>Objetivos específicos</b> .....	3
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
2.1. MEIOS DE CULTURA .....	4
2.2. ISOLAMENTO FÚNGICO DIRETO E INDIRETO .....	5
2.3. ISOLAMENTO DE FUNGOS A PARTIR DE TRONCOS .....	6
2.4. FATORES ASSOCIADOS AO CULTIVO DE FITOPATÓGENOS.....	6
2.5. PRODUÇÃO DE ESPOROS EM MEIO DE CULTURA .....	7
2.6. ARMAZENAMENTO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS .....	7
2.7. REPICAGENS PERIÓDICAS .....	8
2.8. CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DA MADEIRA .....	9
2.8.1. <b>Celulose</b> .....	9
2.8.2. <b>Hemiceluloses</b> .....	10
2.8.3. <b>Lignina</b> .....	11
2.8.4. <b>Extrativos</b> .....	12
2.9. DURABILIDADE NATURAL DA MADEIRA .....	13
2.10. O GÊNERO <i>Eucalyptus</i> .....	14
2.11. FUNGOS XILÓFAGOS .....	16
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	18
<b>CAPÍTULO I: COLETA, ISOLAMENTO, SELEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS XILÓFAGOS DE CEPAS DE EUCALIPTO DETERIORADAS</b> .....	23
RESUMO .....	24
ABSTRACT.....	25
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	26
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
2.1. LOCALIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DA ÁREA E DO MATERIAL COLETADO.....	30
2.2. ARMAZENAMENTO E PREPARO DAS AMOSTRAS .....	32
2.3. ISOLAMENTO INDIRETO E DIRETO DOS FUNGOS PRESENTES NAS CEPAS .....	33
2.4. ARMAZENAMENTO DAS CULTURAS E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS .....	34
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	35
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	39
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	40
<b>CAPÍTULO II: CAPACIDADE DE DETERIORAÇÃO DE <i>Eucalyptus</i> spp. POR FUNGOS XILÓFAGOS</b> .....	42
RESUMO .....	43

ABSTRACT.....	44
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>48</b>
2.1. DETERMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA NATURAL DA MADEIRA .....	48
2.1.1. Espécies de madeira utilizadas .....	48
2.1.2. Preparação dos corpos de prova .....	48
2.1.3. Obtenção e manutenção dos fungos utilizados .....	49
2.1.4. Preparo do substrato .....	49
2.1.5. Repicagem dos fungos .....	50
2.1.6. Inoculação e incubação dos fungos .....	50
2.1.7. Climatização e esterilização dos corpos de prova ..	50
2.1.8. Inoculação dos corpos de prova e período de ataque dos fungos .....	51
2.1.9. Retirada dos corpos de prova .....	51
2.1.10. Avaliação da perda de massa .....	52
2.1.11. Determinação do teor de extrativos .....	52
2.1.12. Análises estatísticas .....	53
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>4. CONCLUSÕES .....</b>	<b>63</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>64</b>

## RESUMO

SILVA, Luciana Ferreira da. **Capacidade de deterioração de cepas de *Eucalyptus* spp. por fungos xilófagos**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES Orientador: Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior. Coorientador: Prof. Dr. Juarez Benigno Paes.

Na reforma do povoamento florestal, após o corte das árvores, as cepas remanescentes de *Eucalyptus* spp. devem ser retiradas. A degradação natural de cepas de eucalipto após o corte raso é lenta. A destoca mecânica eleva o custo de produção, envolve tráfego de máquinas sobre o solo favorecendo a sua compactação e dificultando o crescimento e a distribuição das raízes. Uma alternativa para retirada destas cepas remanescentes é o emprego de fungos decompositores. Objetivou-se com a pesquisa coletar, isolar, selecionar e identificar fungos com potencial de deteriorar madeira de eucalipto, a partir de fragmentos de cepas apodrecidas, para serem utilizados em um ensaio de apodrecimento acelerado e realizar a análise química de madeiras sadias e deterioradas pelos fungos isolados das cepas, que apresentaram maior capacidade de deterioração, para verificar, quais os componentes da madeira sofreram maiores alterações em função da deterioração causa pelos fungos. Amostras de cepas de eucalipto, em decomposição, foram coletadas em plantios comerciais, em três municípios, com microclimas e altitudes diferentes e acondicionadas em sacos de papel poroso e transportadas para o Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), no Departamento de Engenharia Florestal (DEF), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) no município de Jerônimo Monteiro, ES. No LCM foram retiradas amostras de madeira para realizar o isolamento dos fungos e posteriormente a obtenção de culturas puras, em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Nove culturas puras foram isoladas e identificadas, sendo, três fungos pertencentes à Classe dos Basidiomycetes (Basidiomicetos 1, 2 e 3), quatro do gênero *Trichoderma*, um *Lasiodiplodia* e um *Penicillium*. As culturas foram selecionadas, repicadas em placa de Petri e tubos de ensaio contendo BDA e armazenadas em sala climatizada a  $25 \pm 2$  °C e utilizadas no ensaio de apodrecimento acelerado. Após 12 semanas de ensaio, pode-se concluir que os fungos isolados mais eficientes na deterioração da madeira foram os pertencentes à Classe dos Basidiomycetes (Basidiomiceto 1 e Basidiomiceto 2). A análise química da madeira pelos Basidiomicetos 1 e 2, revelou que houve um incremento no teor de extrativos totais na madeira, para ambos Basidiomicetos testados. Para a holocelulose (celulose + hemiceluloses), ocorreram pequenas diferenças entre as madeiras sadias e deterioradas (variações médias em torno de 1%). O Basidiomiceto 2 causou maior degradação da lignina quando comparado ao Basidiomiceto 1.

**Palavras chave:** Cepas apodrecidas. Culturas puras. Fungos xilófagos. Resistência natural.

## ABSTRACT

SILVA, Luciana Ferreira da. **Capacity of deterioration of stumps of *Eucalyptus* spp. by xylophagous fungi.** 2011. Dissertation (Mester's degree on Florest Science) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES. Adviser: Prof. Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior. Co-adviser: Prof. Dr. Juarez Benigno Paes.

On the reform of the forest stand, after the cutting of trees, the remaining strains of *Eucalyptus* spp. must be removed. The natural degradation of stumps of eucalypts after clear cutting is slow. The mechanical destock raises the cost of production, involves machinery traffic on the ground favoring soil compaction and hindering the growth and distribution of roots. An alternative to the withdrawal of the remaining stumps is the employment of decomposing fungi.

This research aimed to collect, isolate, select and identify fungi with potential for decayed eucalypts wood, from fragments of stumps to be used in an essay of accelerated decay and perform chemical analysis of sound wood and deteriorated by fungi isolated from stumps, which have greater ability to deterioration, to verify which components of wood suffered major changes as a function of decay by fungi. Samples of stumps of eucalypts, decomposed, were collected from commercial plantations, in three municipalities, with different altitudes and microclimates and wrapped in porous paper bags and transported to the Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), in the Departamento de Engenharia Florestal (DEF), belonging to the Centro de Ciências Agrárias (CCA) of Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) in the municipality of Jerônimo Monteiro, ES, Brazil. In LCM wood samples were taken to perform the isolation of fungi and subsequently obtaining pure cultures in culture medium Potato-Dextrose-Agar (PDA). A total of nine pure cultures were isolated and identified, being, three belonging to the Class Basidiomycetes fungi (Basidiomycetes 1, 2 and 3), four of the genus *Trichoderma*, one *Lasiodiplodia* and one *Penicillium*. The cultures were selected, subcultured in Petri dish and test tubes containing PDA and stored in air-conditioned room at  $25 \pm 2^\circ$  C and used in the trial of accelerated decay. After 12 weeks of test, conclude that fungi isolated more efficient in the deterioration of wood were those belonging to the Class Basidiomycetes (1 and 2). Chemical analysis of wood decayed by Basidiomycetes 1 and 2, showed that there was an increase in total extractives content in wood, for both the Basidiomycetes tested. For the holocelulose (cellulose more hemicelluloses), there were minor differences between the healthy woods and decayed (variations averaging around 1%). The Basidiomycete 2 caused increased degradation of lignin when compared to Basidiomycete 1.

**Keywords:** Decayed stumps. Pure Cultures. Xylophagous fungi. Natural resistance

## 1. INTRODUÇÃO

Para a reforma do povoamento florestal, após o corte das árvores os tocos remanescentes de *Eucalyptus* spp. devem ser retirados. A destoca mecânica eleva o custo de produção, além de envolver tráfego intenso de máquinas sobre o solo favorecendo a sua compactação e dificultando o crescimento e a distribuição das raízes.

A degradação natural de cepas remanescentes de eucalipto após o corte raso é lenta, permanecendo tal material praticamente inalterado por vários anos após a colheita florestal. Assim, o emprego de fungos pré-selecionados com potencial de deteriorar cepas de eucalipto pode constituir uma alternativa, visando assim reduzir ou eliminar a influência negativa das cepas nas áreas de reforma e contribuir para a maior sustentabilidade das florestas plantadas.

A resistência ou durabilidade natural da madeira (cepas) é a sua capacidade de resistir ao ataque de organismos xilófagos (PAES, 2002). Mesmo uma espécie botânica que apresenta reconhecida durabilidade natural, não é capaz de resistir, indefinidamente, a ação das intempéries ou às variações das condições ambientais (SILVA, 2005).

A madeira, ao ser exposta a diversas condições ambientais, está sujeita às influências de variação de temperatura e umidade, sofre ação de substâncias químicas do meio (atmosfera, solo e água) que reagem com seus componentes deteriorando-os, além de sofrer ação de organismos xilófagos, principalmente fungos e insetos (SGAI, 2000).

A durabilidade natural da madeira determina sua utilização, principalmente em regiões de clima tropical, onde as condições de temperatura e umidade proporcionam ótimas condições para o desenvolvimento de fungos, que podem utilizar a madeira como fonte de alimento. Estes organismos têm uma atividade tão intensa que o ataque pode ocorrer até em uma árvore viva (ROCHA, 2001). Segundo o autor citado anteriormente, a ação de agentes xilófagos na madeira é denominada de deterioração biológica.

Madeiras que apresentam elevada durabilidade natural a esses organismos podem ser destacadas por um alto grau de nobreza, conferindo-

lhes amplo espectro de utilização e, conseqüentemente, tornando-as mais valorizadas no mercado. Sabe-se que o grau de resistência aos agentes biológicos é muito variável entre as madeiras, sendo um grande número destas caracterizadas por apresentarem elevada resistência ao ataque de insetos e de fungos apodrecedores (OLIVEIRA et al., 2005).

Segundo Oliveira et al. (2005), o processo de apodrecimento causado pela atuação de enzimas produzidas pelos fungos pode ser relativamente rápido, demonstrando, assim, a eficiência dos fungos xilófagos em degradar substratos lignocelulósicos.

Ao longo do desenvolvimento da árvore se acumulam compostos ou metabólicos secundários, apresentando infinitas composições químicas, podendo ser terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, que fornecem proteção natural à madeira, por causa da sua toxidez aos agentes xilófagos (MADY, 2010). Segundo o autor citado, algumas substâncias inorgânicas que preenchem o interior das células como cristais e sílica, dificultam ainda mais o ataque de insetos e de brocas, e até mesmo obstruções nos elementos de vaso, conhecidas como tilos, constituindo uma barreira natural à proliferação de fungos.

Segundo Santos (1992), a madeira sob ataque de fungos apresenta alterações na composição química, redução da resistência mecânica, diminuição de massa, modificação da cor natural, aumento da permeabilidade, redução da capacidade acústica, aumento da inflamabilidade, diminuição do poder calorífico e maior propensão ao ataque de insetos, comprometendo, dessa forma, a sua qualidade e inviabilizando a sua utilização para fins tecnológicos.

Lelles e Rezende (1986) citaram que dentro do gênero *Eucalyptus* existem espécies produtoras de madeiras cultivadas no Brasil que não são resistentes ao ataque de organismos xilófagos. Para eles, inclusive a madeira de cerne da maioria das espécies, não apresenta resistência natural satisfatória. Os autores relataram também que há poucos estudos sobre a resistência natural das diversas espécies de *Eucalyptus* cultivadas no Brasil.

Segundo Onofre et al. (2001), o tempo estimado para a degradação biológica natural de tocos de *Eucalyptus* spp. no campo é de aproximadamente

25 anos. Considerando que as áreas de plantio de eucalipto são intensivamente cultivadas e este plantio é renovado a cada cinco ou sete anos, com 1.800 a 2.500 plantas/ha, com o passar do tempo, estas áreas irão se tornar impróprias para o plantio, uma vez que estarão totalmente ocupadas, em sua maior parte, por cepas e raízes em diferentes estádios de decomposição (ANDRADE, 2003).

Desta forma, a deterioração de cepas remanescentes, após a colheita florestal, está condicionada às características edafoclimáticas, sucessão fúngica ecológica de decomposição, espécie florestal e a idade das cepas (proporção de cerne e alburno).

## 1.1. OBJETIVOS

### 1.1.1. Objetivo geral

Realizar a seleção, o isolamento, a identificação e avaliação da capacidade de deterioração dos fungos isolados em cepas de *Eucalyptus* spp.

### 1.1.2. Objetivos específicos

- Realizar o isolamento indireto de fungos a partir de fragmentos das cepas de eucaliptos deterioradas coletadas no campo;
- Obter culturas puras a partir da realização do isolamento indireto e sucessivas repicagens;
- Identificar os fungos xilófagos isolados e armazenados;
- Classificar os fungos isolados e identificados de acordo com os grupos os quais pertencem (emboladores, manchadores e apodrecedores);
- Utilizar as culturas puras obtidas para a realização de ensaio de apodrecimento acelerado em laboratório; e
- Realizar a análise química de madeiras sadias e deterioradas pelos fungos isolados das cepas, que apresentaram maior capacidade de deterioração, para verificar, quais os componentes da madeira sofreram maiores alterações em função da deterioração.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. MEIOS DE CULTURA

Meios de cultura consistem da associação qualitativa e quantitativa de substâncias que fornecem os nutrientes necessários ao desenvolvimento (cultivo) de microrganismos fora do seu meio natural. Tendo em vista a ampla diversidade metabólica dos microrganismos, existem vários tipos de meios de cultura para satisfazerem as variadas exigências nutricionais. Os nutrientes são substâncias necessárias à síntese de constituintes celulares para manutenção da vida e são fornecidos de forma a atender às exigências da espécie a ser cultivada, promovendo o crescimento e, ou, esporulação satisfatória do organismo. Além dos nutrientes é preciso fornecer condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento dos microrganismos, tais como pH, pressão osmótica, umidade, temperatura e atmosfera (aeróbia, microaeróbia ou anaeróbia).

A composição do meio de cultura vai depender do microrganismo que se deseja cultivar e dos objetivos do estudo. Segundo Tuite (1969) quanto ao estado físico, os meios podem ser líquidos (caldo ou extratos) ou sólidos, quando se adiciona ágar (1,5-2%) para solidificar, estes são normalmente usados em placas de Petri e em tubos de ensaio. Quanto à composição, os meios podem ser sintéticos, semi-sintéticos ou naturais. Os meios de cultura naturais, que são à base de extratos e decocções de material natural de composição desconhecida, como extrato de levedura, extrato de malte, extrato de carne, batata, cenoura, aveia, arroz, milho e outros. Por estes meios de cultura serem de baixo custo, são amplamente utilizados em trabalhos de rotina (isolamento e repicagem). Contudo, alguns fungos não esporulam e nem mesmo crescem nesses meios, exigindo, assim, aqueles mais complexos, com adição de vitaminas e outros reguladores de crescimento.

## 2.2. ISOLAMENTO FÚNGICO DIRETO E INDIRETO

Segundo Alfenas (2005), o isolamento de fungos fitopatogênicos consiste na sua obtenção em cultura pura a partir de tecidos doentes do hospedeiro, solo ou de qualquer outro substrato. A obtenção do patógeno em cultura pura é essencial em estudos de morfologia, taxonomia, reprodução e fisiologia, bem como em testes de patogenicidade, resistência genética de plantas e sensibilidade a fungicidas.

A obtenção de um organismo em cultura pura não significa que ele seja o agente causal da doença. Para provar que um dado organismo é o agente capaz de causar uma doença, é essencial seguir rigorosamente as seguintes regras do Postulado de Koch: associação constante do organismo com a doença; isolamento do organismo em cultura pura; inoculação da cultura isolada em plantas sadias, reprodução dos sintomas e sinais típicos da doença e por fim, reisolamento do mesmo organismo inoculado.

Diferentes técnicas de isolamento são usadas conforme a natureza do órgão doente, o substrato e o estágio de desenvolvimento do patógeno (vegetativo ou reprodutivo), bem como a critério do operador. Todavia, os métodos básicos de isolamento são o direto e o indireto.

O isolamento direto consiste na transferência, com o auxílio de um estilete, de estruturas do patógeno (esporos, hifas, rizomorfos, ou escleródios) diretamente do órgão infectado ou de outro substrato para o meio de cultura. O isolamento direto tem diversas vantagens, pois, por meio, deste pode-se obter o organismo puro, isento de contaminações de microrganismos saprófitas associados ao tecido infectado, sendo possível saber exatamente qual organismo está sendo transferido para o meio e podem-se estabelecer comparações entre as estruturas do organismo formadas na superfície do hospedeiro e em cultura.

A técnica de isolamento indireto consiste na transferência, para o meio de cultura, de porções infectadas de tecido do hospedeiro ou amostras de solo e sementes infestadas. Os métodos de isolamento indireto variam com o tipo de órgão ou tecido infectado (órgãos lenhosos ou carnosos, não-lenhosos ou não-carnosos) ou substrato de onde o organismo é recuperado.

### 2.3. ISOLAMENTO DE FUNGOS A PARTIR DE TRONCOS

Nos tecidos lenhosos ou carnosos o patógeno atinge as camadas de células mais profundas, a incidência de contaminantes superficiais deve ser evitada pela remoção dos tecidos expostos e transferência de apenas fragmentos tissulares mais internos, retirados das margens da lesão, para o meio de cultura (ALFENAS, 2005).

A exposição dos tecidos dos quais o patógeno é isolado é feita com o auxílio de um escalpelo ou lâmina de barbear previamente flambados, tendo-se o cuidado de não tocar com a ferramenta cortante na região do tecido recém-exposto.

Pequenos fragmentos do tecido recém-descoberto são cortados nas margens da lesão e assepticamente transplantados em meio de cultura, com o uso de uma pinça ou estilete.

### 2.4. FATORES ASSOCIADOS AO CULTIVO DE FITOPATÓGENOS

A maioria dos fungos se desenvolve satisfatoriamente na faixa de 20-30 °C. A temperatura ótima para crescimento vegetativo pode diferir da ótima para esporulação. Além disso, alguns fungos desenvolvem melhor quando há flutuações de temperatura, como ocorre em condições naturais. O conhecimento das exigências do microrganismo quanto à temperatura ótima de crescimento é fundamental para otimização de seu cultivo "in vitro". As temperaturas mínimas e máximas são aquelas em que abaixo e acima das quais não há crescimento, respectivamente (TUIE, 1969).

A esporulação de fungos é geralmente estimulada pela luz, no entanto seus efeitos podem variar com a espécie, com o meio de cultura, com a temperatura e com o período de incubação. Normalmente, a exposição à luz continua ou ao fotoperíodo de 12h e a utilização de lâmpadas do tipo fluorescente que emitem luz branca (luz do dia) ou luz negra de comprimento de onda próxima do ultravioleta (UV) num espectro de 320-420 nm, estimulam a esporulação. Assim, o fornecimento de luz deve ser feito com dois ou três

dias de incubação após início do crescimento do fungo, pois colônias velhas não respondem ao estímulo de luz (DHINGRA e SINCLAIR, 1995).

O pH ótimo para crescimento vegetativo pode ser distinto daquele para indução de esporulação. Enquanto fungos crescem numa faixa ampla de valores, bactérias geralmente não toleram meios ácidos. Meios contendo ágar não solidificam em pH abaixo de 4,0. Desde que a autoclavagem pode alterar o pH do meio, seu ajuste, antes ou depois da mesma, depende do objetivo do estudo (DHINGRA e SINCLAIR, 1995).

Dióxido de carbono e oxigênio são os principais gases que afetam o crescimento de microrganismos. O gás carbônico é utilizado em todas as células em determinadas reações químicas, no entanto, seu excesso no meio de cultura, como também o de amônia e de outras substâncias voláteis, pode inibir o crescimento e a esporulação de alguns fungos (ALFENAS, 2005).

## 2.5. PRODUÇÃO DE ESPOROS EM MEIO DE CULTURA

Para a produção de esporos em meio de cultura devem-se utilizar meios mais pobres em nutrientes, mas que sustente seu crescimento. Os meios pobres em carbono (carboidrato complexo ou menor quantidade de açúcar) e, ou nitrogênio, como os meios de cultura naturais, provenientes de extratos (sucos), decocção (chá) ou tecidos, preferencialmente obtidos do hospedeiro do patógeno são mais indicados (TUIE, 1969).

Para fungos biotróficos, como as ferrugens e oídios, os esporos são produzidos no próprio hospedeiro inoculado e mantido sob condições de ambiente favoráveis à esporulação.

## 2.6. ARMAZENAMENTO DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Normalmente culturas fúngicas são armazenadas em curto prazo, rotineiramente, em tubos com meio inclinado (BDA), em geladeira (10°C). Os tubos ocupam menos espaço e têm superfície exposta bem menor que a de uma placa, ficando menos sujeito às contaminações. Todavia, é necessário efetuar repicagens periódicas para garantir a viabilidade das culturas. O

período de repicagem varia entre espécies, mas em geral as culturas devem ser repicadas a cada seis meses.

Existem outros métodos mais eficientes de armazenamento de microrganismos, como nitrogênio líquido, liofilização, água destilada esterilizada (método de Castellani), grãos, solo e congelamento, que garantem a viabilidade e preservação de características de interesse das culturas por mais tempo (TUIE, 1969; SINGLETON et al., 1992; DHINGRA e SINGLAIR, 1995; FIGUEIREDO, 2001).

Após o isolamento do fungo de interesse em cultura pura, deve-se proceder o armazenamento por longo prazo, para que não haja perda de culturas. Para efeito de padronização de metodologia, considera-se 30 dias como o tempo mínimo de armazenamento de curto prazo, embora no caso de bactérias haja isolados que não suportam mais que sete dias num tubo de meio inclinado em geladeira (ALFENAS, 2005).

## 2.7. REPICAGENS PERIÓDICAS

É provavelmente o método de rotina mais usado para manutenção de culturas, em curto prazo. Consiste na repicagem periódica do microrganismo em estudo para novos tubos de ensaio contendo meio de cultura. Os tubos são mantidos na temperatura que favoreça o crescimento do patógeno até que se colonize todo o meio de cultura e, após a colonização, devem ser mantidos à baixa temperatura, em refrigerador (10 °C), para reduzir a atividade metabólica do organismo. Para evitar contaminação das culturas dentro da geladeira, recomenda-se usar tampões de algodão hidrófobo (ALFENAS, 2005).

O tempo de repicagem das culturas varia com o microrganismo, o meio de cultura, a umidade e a temperatura de armazenamento. Quando em meio inclinado e armazenadas em geladeira, são usualmente repicadas a cada seis meses. Além de laboriosas, as repicagens periódicas podem induzir o patógeno ao hábito saprofítico, à alteração de sua morfologia, à diminuição e à perda de sua capacidade de esporular e à diminuição de sua agressividade e até mesmo sua virulência. Para minimizar esses problemas, na repicagem devem-se transferir apenas as porções jovens e esporulantes da colônia

(TUIITE, 1969). Para trabalhos com fungos fitopatogênicos realizados num prazo de um semestre, este método pode ser utilizado com sucesso.

## 2.8. CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DA MADEIRA

A constituição química dos materiais lignocelulósicos é abrangente e diversificada, com relação às substâncias que neles se traduzem em um sistema multimolecular de alta complexidade estrutural, de ligações cruzadas e de grande importância na preservação e nas propriedades dos materiais lenhosos (KLOCK et al., 2005).

O conhecimento da composição química da madeira é importante para utilizações técnicas e fins científicos, tais como polpação e branqueamento, biopolpação, durabilidade natural, desenvolvimento de preservantes e retardantes de fogo e produção de carvão são alguns exemplos em que o conhecimento da composição química da madeira é necessário. As propriedades físicas e mecânicas também estão relacionadas às propriedades químicas e morfológicas da madeira (TRUGILHO et al., 1997).

A composição química da madeira é caracterizada pela presença de componentes fundamentais (primários) e complementares (secundários). Os componentes primários caracterizam a madeira, pois são partes integrantes das paredes das fibras e da lamela média. São considerados componentes primários, a celulose, as hemiceluloses e a lignina (OLIVEIRA, 1997; SILVA, 2002). O conjunto da celulose e das hemiceluloses compõe o conteúdo total de polissacarídeos contidos na madeira sendo denominado holocelulose (ZOBEL e VAN BUIJTENEN, 1989). Os extrativos atuam como componentes secundários e também devem ser quantificados (OLIVEIRA, 1997; SILVA, 2002).

### 2.8.1. Celulose

A celulose é o composto orgânico mais comum na natureza. Ela constitui entre 40 e 50% de quase todas as plantas, e localiza-se principalmente na parede secundária das células vegetais. Quimicamente, a

celulose é um polissacarídeo que se apresenta como um polímero de cadeia linear com comprimento suficiente para ser insolúvel em solventes orgânicos, água, ácidos e álcalis diluídos, à temperatura ambiente, consistindo única e exclusivamente de unidades de  $\beta$ -D-anidroglicopiranosose, que se ligam entre si pelos carbonos 1-4, possuindo uma estrutura organizada e parcialmente cristalina (KLOCK et al., 2005).

Ainda segundo tais autores, moléculas de celulose formam feixes e têm forte tendência para formar pontes de hidrogênio inter e intramoleculares. Feixes de moléculas de celulose se agregam na forma de microfibrilas na qual regiões altamente ordenadas (cristalinas) se alternam com regiões menos ordenadas (amorfas). As microfibrilas constroem fibrilas e estas constroem as fibras celulósicas. Como consequência dessa estrutura fibrosa a celulose possui alta resistência à tração e é insolúvel na maioria dos solventes.

A celulose possui fórmula geral  $(C_6H_{10}O_5)_n$  e sua unidade de repetição é a celobiose, que contém dois açúcares. As madeiras de coníferas são compostas de, aproximadamente, 45-50% de celulose e as folhosas de cerca de 40-50% (BIERMANN, 1996).

### **2.8.2. Hemiceluloses**

As hemiceluloses, também chamadas de polioses, encontram-se em estreita associação com a celulose na parede celular, possuem cadeias mais curtas; isto significa um grau de polimerização menor quando comparado à celulose, podendo existir grupos laterais e ramificações em alguns casos (ANDRADE, 2006). Segundo Pastore (2004), quimicamente, as hemiceluloses são a fração polimérica de polissacarídeos, constituída de unidades de vários açúcares sintetizados na madeira e em outros tecidos das plantas.

Enquanto a celulose, como substância química, contém exclusivamente a D-glucose como unidade fundamental, as hemiceluloses são polímeros, em cuja composição podem aparecer, condensadas em proporções variadas, as seguintes unidades de açúcar: xilose, manose, glucose, arabinose, galactose, ácido galactourônico, ácido glucourônico e ácido metilglucourônico (KLOCK et al., 2005).

Deve-se sempre lembrar que o termo hemicelulose não designa um composto químico definido, mas sim uma classe de componentes poliméricos presentes em vegetais fibrosos, possuindo cada componente, propriedades peculiares. Como no caso da celulose e da lignina, o teor e a proporção dos diferentes componentes encontrados nas hemiceluloses de madeira variam grandemente com a espécie e, provavelmente, também de árvore para árvore.

Por não possuir regiões cristalinas, as polioses são atingidas mais facilmente por produtos químicos. Entretanto, em função da perda de alguns substituintes da cadeia, as hemiceluloses podem sofrer cristalização induzida pela formação de pontes de hidrogênio, a partir de hidroxilas de cadeias adjacentes, dificultando, desta forma, a atuação de um produto químico com o qual esteja em contato (KLOCK et al., 2005).

As hemiceluloses isoladas da madeira são misturas complexas de polissacarídeos, sendo os mais importantes: as glucouranoxilanas, arabinoglucouranoxilanas, galactoglucomananas, glucomananas e arabinogalactanas. As coníferas possuem proporções de glucomananas (10-15%) e galactoglucomananas (6%) mais altas do que as folhosas, enquanto as folhosas têm maior proporção de glucoronoxilanas (15-30%) e de grupos acetílicos (BIERMANN, 1996; PASTORE 2004). Já Klock et al. (2005) encontraram proporções diferentes, de 18 a 25% de glucomananas e 8 a 20% de galactoglucomananas nas coníferas (superiores que as folhosas), e 20 a 35% de glucoronoxilanas nas folhosas, maior que o encontrado em coníferas.

### **2.8.3. Lignina**

É um biopolímero aromático amorfo, formado via polimerização oxidativa. Ocorre na parede celular de plantas superiores em diferentes composições: folhosas de 25 a 35%, coníferas de 18 a 25% e gramíneas de 10 a 30% (PASTORE, 2004). É localizada principalmente na lamela média, bem como na parede secundária. Durante o desenvolvimento das células, a lignina é incorporada como o último componente na parede, interpenetrando as fibrilas e assim fortalecendo e enrijecendo as paredes celulares (FENGEL, 1989).

Ocorre, principalmente, em tecidos vasculares, porém a distribuição das ligninas não é uniforme nas diferentes partes da árvore.

As ligninas podem ser classificadas de acordo com os seus três elementos estruturais básicos: álcool p-coumaril, álcool coniferil e álcool sinapil. As madeiras de folhosas contêm dois deles, o álcool coniferil (50-75%) e o álcool sinapil (25-50%), e as coníferas contêm somente o álcool coniferil. A polimerização do álcool coniferil produz ligninas guaiacil, enquanto a polimerização dos álcoois coumaril e sinapil produzem as ligninas siringil-guaiacil das folhosas (PASTORE, 2004).

#### **2.8.4. Extrativos**

Os extrativos são responsáveis por determinadas características como cor, cheiro, resistência natural ao apodrecimento, gosto e propriedades abrasivas da madeira.

Os compostos extraíveis são geralmente caracterizados por terpenos, compostos alifáticos e compostos fenólicos quando presentes. Os extrativos são compostos químicos presentes em relativamente pequena quantidade na madeira e são extraídos mediante a sua solubilização em solventes. Podem ser quantificados e isolados com o propósito de um exame detalhado da estrutura e composição da madeira (FENGEL, 1989; DUEÑAS, 1997).

Do ponto de vista químico, a cor da madeira depende pouco dos seus componentes principais e mais das substâncias extraíveis em água ou solventes orgânicos. Um fato que corrobora esta afirmação é que somente o cerne da madeira é nitidamente colorido. No alburno, há a predominância da coloração das ligninas (branca amarelada) que, comparativamente à do cerne, são pouco coloridas. Os pigmentos são produzidos durante a formação do cerne (KLOCK et al., 2005).

Em regiões de clima temperado, a porcentagem de extrativos nas madeiras varia de 0,5 a 10%; em algumas regiões tropicais, pode ser acima de 20%. Os principais mecanismos de extração dos extrativos de madeiras fazem uso de solventes orgânicos, água ou por destilação em vapor (OLIVEIRA, 2009). Porém, a determinação exata da quantidade de extrativos em massa é

complicada por causa dos fenômenos de entrecruzamento molecular que ocorre com os demais constituintes da madeira ao se fazer uso de solventes.

## 2.9. DURABILIDADE NATURAL DA MADEIRA

A durabilidade biológica ou natural da madeira é a capacidade inerente da espécie em resistir à ação dos agentes degradadores, incluindo os agentes físicos, os químicos e os biológicos (PAES, 2002). Segundo OLIVEIRA et al., (1986) a madeira é degradada biologicamente porque os organismos reconhecem os polímeros naturais da parede celular como fonte de nutrição e, os metabolizam em unidades digeríveis pela ação de sistemas enzimáticos específicos.

A constituição química variável entre as espécies, e até mesmo entre as células da mesma madeira, é um fator determinante da sua resistência natural ao ataque dos microrganismos. O alburno é mais suscetível à degradação que o cerne por ser a parte da madeira que apresenta material nutritivo armazenado. O cerne, além da ausência deste tipo de material, possui os extrativos, que contêm substâncias inibidoras ou tóxicas (SILVA, 2007).

Os fungos são organismos que necessitam de compostos orgânicos como fonte de alimento. Aqueles que utilizam os componentes químicos da madeira são conhecidos como fungos xilófagos (OLIVEIRA et al., 1986; LELIS et al., 2001) e são os principais e mais importantes agentes biodeterioradores das madeiras existentes no mundo (OLIVEIRA, 1997). Sendo os responsáveis por profundas alterações nas propriedades físicas e mecânicas da madeira (ISTEK et al., 2005). Os polissacarídeos presentes na parede celular da madeira servem como fonte de energia (alimento) para esses microrganismos (LELIS, 2000). No processo de deterioração, o teor de lignina é conhecido por ser um fator que confere maior resistência à degradação da parede celular. Usualmente, a habilidade dos fungos em deteriorar a madeira não é a mesma e se observa uma especificidade de alguns fungos a algumas madeiras (FERRAZ et al., 2001).

Os fatores que facilitam a deterioração da madeira por fungos são os teores de umidade do material acima de 25%, a temperatura entre 20 e 35°C e

os baixos teores de extrativos totais presentes na madeira (OLIVEIRA et al., 1986; LELIS et al., 2001). Já para o “Forest Products Laboratory” (2010) as condições ótimas para o desenvolvimento dos fungos compreendem temperaturas entre 10 e 35°C e madeira com teores de umidade em torno de 20 a 30%.

## 2.10. O GÊNERO *Eucalyptus*

A cultura do eucalipto foi introduzida no Brasil em 1904, com o objetivo de fornecer lenha às locomotivas da Companhia Paulista de Estradas de Ferro (REZENDE, 1981; AGUIAR, 1986). Em Minas Gerais sua implantação ocorreu em 1940, para suprir o setor siderúrgico de carvão vegetal. Mais tarde, com a lei dos incentivos fiscais, a eucaliptocultura teve grande expansão em todo o território nacional (REZENDE, 1981; DELLA LUCIA, 1986; SILVA, 1993).

A expansão na área plantada com eucalipto é resultado de um conjunto de fatores que vêm favorecendo o plantio em larga escala deste gênero. Entre os aspectos mais relevantes estão o rápido crescimento em ciclo de curta rotação, a alta produtividade florestal e a expansão e direcionamento de novos investimentos por parte de empresas de segmentos que utilizam sua madeira como matéria prima em processos industriais.

Segundo dados da Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas - ABRAF (2009), o setor florestal brasileiro a cada ano se destaca no cenário mundial, em 2009 a área total de florestas plantadas de eucalipto e pinus no Brasil atingiu 6.310.450 ha, apresentando um crescimento de 2,5 % em relação ao total de 2008. A área de florestas com eucalipto está em franca expansão na maioria dos estados brasileiros com tradição na silvicultura deste grupo de espécies, ou em estados considerados como novas fronteiras da silvicultura, com crescimento médio no país de 7,1% ao ano entre 2004-2009.

Apesar de serem descritas cerca de 700 espécies do gênero *Eucalyptus*, os plantios são restritos a poucas espécies, podendo-se citar, principalmente, *Eucalyptus grandis*, *E. urophylla*, *E. saligna*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. globulus*, *E. viminalis*, *E. deglupta*, *Corymbia citriodora*, *E. exserta*, *E. paniculata* e *E. robusta*. Ressalta-se que, no Brasil, as espécies *E.*

*cloezina* e *E. dunnii* são consideradas promissoras para as regiões centrais e sul, respectivamente (GOMIDE, 1986).

Segundo Carvalho (2000), a hibridação é empregada como técnica de desenvolvimento de novos materiais genéticos com intuito de gerar indivíduos com vantagens específicas. Estes materiais híbridos unem em uma única planta características almejavéis vindas de espécies distintas, possibilitando a melhoria, em menor tempo, de diferentes propriedades tecnológicas desejáveis na matéria prima para atender aos mais diversos usos.

Para Gouvêa et al. (1997) parâmetros como rusticidade, resistência mecânica e tolerância ao déficit hídrico do *Eucalyptus urophylla*, conferem a espécie alto potencial para ser empregada em programas de hibridação com o *Eucalyptus grandis* que possui boas características silviculturais, resultando em um material homogêneo e com qualidade.

De acordo com Bassa et al. (2007), os híbridos de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* apresentam rápido crescimento, com ciclos de corte variando entre seis e sete anos de idade.

Segundo Almeida (2002), o híbrido de *Eucalyptus urophylla* x *Eucalyptus grandis* tem grande importância no setor de produção de polpa celulósica por sua alta produtividade na qualidade das fibras, o que faz com que as empresas deste ramo desenvolvam plantios do híbrido.

Em função da grande variação genética entre espécies, o eucalipto pode ser utilizado como madeira na construção civil, na indústria de móveis e na produção de portas, janelas, lambris e assoalhos (VITAL e DELLA LUCIA, 1986). Por causa da ampla gama de utilização do eucalipto, algumas empresas, tradicionalmente produtoras de celulose e papel ou de carvão vegetal, passaram a manejar suas florestas para o uso múltiplo (SILVA, 1993; COUTO, 1995). Por causa de sua disponibilidade, taxa de crescimento, forma do fuste e propriedades físico-mecânicas, o eucalipto apresenta boas perspectivas como sucedânea de espécies nativas (LELLES e REZENDE, 1986).

A escolha do eucalipto para suprir o consumo de madeira, tanto em escala industrial como para pequenos consumidores, está relacionada a algumas vantagens da espécie que será escolhida para tal fim. Às

características desejáveis citadas, somam-se o conhecimento acumulado sobre silvicultura e manejo do eucalipto e ao melhoramento genético, que favorecem ainda mais a utilização do gênero para os mais diversos fins (PLAZZI, 1986).

## 2.11. FUNGOS XILÓFAGOS

Segundo Bergamin Filho e Amorim (2011), os fungos constituem um grupo numeroso de organismos, diversificado filogeneticamente e de grande importância ecológica e econômica. É um grupo heterogêneo que apresenta características que permitem separá-los dos outros seres vivos, formando um reino a parte.

Oliveira et al. (1986), Oliveira (1997), Lelis et al. (2001) e "Forest Products Laboratory" (2010) citaram que os fungos xilófagos são reunidos, em função do tipo de ataque à madeira, nos seguintes grupos: (1) Fungos emboloradores e, ou, manchadores (responsáveis por alterações na superfície da madeira e popularmente conhecidos como bolor e, ou, por manchas profundas no alburno das madeiras por causa da presença de hifas pigmentadas ou de pigmentos liberados pelos fungos). As propriedades mecânicas das madeiras atacadas por esses fungos são pouco alteradas, pois eles não possuem complexos enzimáticos capazes de degradar os polímeros da madeira e apenas utilizam as substâncias de fácil assimilação (açúcares simples, proteínas e gorduras) encontradas nos lumes celulares; e (2) Fungos Apodrecedores (responsáveis por profundas alterações nas propriedades físicas e mecânicas das madeiras, por causa das progressivas deteriorações das moléculas que constituem as suas paredes celulares).

A madeira atacada pelos fungos de podridão mole apresenta uma camada superficial escurecida e pequenas fissuras paralelas e perpendiculares à grã e é macroscopicamente caracterizada por um ataque seletivo no interior da parede secundária da célula (ZABEL e MORREL, 1992). A podridão mole é considerada como uma forma de apodrecimento causada por fungos pertencentes às Divisões *Ascomycota* e dos fungos mitospóricos *Deuteromycota*. Em geral, estes fungos são considerados microrganismos com uma capacidade limitada de degradação, que se desenvolvem dentro das

paredes celulares e decompõem os principais componentes da madeira, tais como a celulose e hemicelulose.

A podridão parda é causada por fungos pertencentes à Divisão *Basidiomycota* que, em geral, apresentam uma alta capacidade de degradação. Estes fungos despolimerizam a celulose, porém, afetam pouco a lignina. As madeiras atacadas por estes fungos apresentam coloração marrom escura (EATON e HALE, 1993).

A podridão branca é também causada por fungos pertencentes à Divisão *Basidiomycota*, que apresentam uma alta capacidade de degradação. Entretanto, para este caso, a lignina é removida da parede da célula e a celulose e a hemicelulose são degradadas em proporções variadas. A madeira degradada por estes fungos apresenta-se mais clara e macia do que a sadia e tem as suas propriedades físicas e mecânicas afetadas, causam uma diminuição significativa na resistência e um aumento na permeabilidade da madeira (OLIVEIRA, 1986).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS - ABRAF. **Anuário Estatístico da ABRAF 2010 ano base 2009**. Brasília, 2010. 140p. Disponível em:<<http://www.abraflor.org.br/estatisticas.asp>> Acesso em: 10 jun. 2011.

AGUIAR, O. J. R. **Métodos para controle das rachaduras de topo em toras de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden, visando à produção de lâminas por desenrolamento**. 1986. 92 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1986.

ALFENAS, A. C. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 210 p.

ALMEIDA, R. R. **Potencial da madeira de clones de híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* para a produção de lâminas e manufatura de painéis de compensado**. 2002. 80f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

ANDRADE, F. A. **Degradação de tocos de *Eucalyptus grandis* por fungos**. 2003. 73 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônomicas “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Botucatu, 2003.

ANDRADE, A. S. **Qualidade da madeira, celulose e papel em *Pinus taeda* L.: influência da idade e classe de produtividade**. 2006. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BASSA, A. et al. Misturas de madeira de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* e *Pinus taeda* para produção de celulose Kraft através do processo Lo-Solids. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 51, n. 75, p. 19-29, 2007.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Agentes causais. In: BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2011. v. 1, p. 46 - 95.

BIERMANN, C. J. **Handbook of pulping and papermaking**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1996. 754p.

CARVALHO, A. M. **Valorização da madeira do híbrido de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* através da produção conjunta de madeira serrada em pequenas dimensões, celulose e lenha**. 2000. 138f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2000.

COUTO, H. T. Z. Manejo de floresta e sua utilização em serraria. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE UTILIZAÇÃO DA MADEIRA DE

- EUCALIPTO PARA SERRARIA, 1995, São Paulo. **Anais...** São Paulo: LCF/ESALQ/USP, 1995, p. 20-30.
- DELLA LUCIA, M. A. Histórico da política da cultura do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 141, p. 3-4, 1986.
- DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434 p.
- DUEÑAS, R. S. **Obtención de pulpas y propiedades de las fibras para papel**. Guadalajara: Universidad de Guadalajara, 1997. 293p.
- EATON, R. A.; HALE, M. D. C. **Wood: decay, pests and protection**. New York: Chapman & Hall, 1993. v.1, 116p.
- FERRAZ, A. et al. Biodegradation of *Pinus radiata* softwood by white - and brown-rot fungi. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Oxford, v.17, n.1, 2001, p.31-34.
- FENGEL, D. G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989. 613p.
- FIGUEIREDO, M. B. Métodos de preservação de fungos patogênicos. **Biológico**, São Paulo, p. 59- 68. 2001.
- FOREST PRODUCTS LABORATORY – FPL. **Wood handbook: wood as an engineering material**. Madison: USDA/FS/FPL, 2010, 463p. (General Technical Report , FPL/GTR,113).
- GOUVÊA, C. A. et al. Seleção fenotípica por padrão de proporção de casca de rugosapersistente em árvores de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, visando formação de população base de melhoramento genético: qualidade da madeira. In: INFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENTOP EUCALYPTUS, 4., 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisas de Florestas, 1997. v.1. p. 355-360.
- GOMIDE, J. L. Produção de celulose e papel com madeira de eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n 133, p. 80 - 82, 1986.
- ISTEK, A. et al. Biodegradation of *Abies bornmülleriana* (Mattf.) and *Fagus orientalis* (L.) by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Berlin, v.55, n.2, p. 63 - 67, 2005.
- KLOCK, U. et al. **Química da madeira**. 3. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005. 81p. Disponível em: <<http://www.madeira.ufpr.br/disciplinas/klock/quimicadamadeira/quimicadamadeira.pdf>>. Acesso em: 03 jun. 2011.

LELIS, A. T. et al. **Biodeterioração de madeiras em edificações**. São Paulo: IPT, 2001. 54p.

LELIS, A. T. Insetos deterioradores de madeira no meio urbano. **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v.13, n.33, p.81-90, 2000.

LELLES, J. G.; REZENDE, J. L. P. Considerações gerais sobre tratamento preservativo da madeira de eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n. 133, p.83 - 89, 1986.

MADY, F. T. M. **Preservação da madeira**. 2010. Disponível em: <[http://www.conhecendoamadeira.com/download/.../03\\_insetos02.pdf](http://www.conhecendoamadeira.com/download/.../03_insetos02.pdf)>. Acesso em: 09 jun. 2011.

OLIVEIRA, J. T. S. et al. Influência dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 819-826, 2005.

OLIVEIRA, A. M. F. et al. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT, 1986. v.1, p.99-278.

OLIVEIRA, R. M. **Utilização de técnicas de caracterização de superfícies de madeiras tratadas termicamente**. 2009. 118f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

OLIVEIRA, J. T. S. **Caracterização da madeira de eucalipto para construção civil**. 1997. 429f. Tese (Doutorado em Engenharia Civil) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

ONOFRE, F. F. et al. Modelo de degradação de tocos remanescentes em povoamentos de eucalipto. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 8., 2001. Bauru, **Anais...** Bauru: UNESP, 2001. CD ROM.

PAES, J. B. Resistência natural da madeira de *Corymbia maculata* (Hook.) K. D. Hill e L.A.S. Johnson a fungos e cupins xilófagos, em condições de laboratório. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 761-767, 2002.

PASTORE, T. C. M. **Estudos do efeito da radiação ultravioleta em madeiras por espectroscopias raman (ft-raman), de refletância difusa no infravermelho (drift) e no visível (cie-l\*a\*b\*)**. 2004. 131f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

PLAZZI, T. Celulose e papel de alta qualidade. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n. 133, p. 99 -100, 1986.

REZENDE, G. C. Implantação e produtividade de florestas para fins energéticos. In: PENEDO, W.R. (Ed.). **Gaseificação de madeira e carvão**

**vegetal.** Belo Horizonte: CETEC, 1981. p. 9-24. (Série de Publicações Técnicas, 4).

VITAL, B.R.; DELLA LUCIA. R.M. Propriedade física e mecânica da madeira de eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n. 141, p.7174, 1986.

ROCHA, M. P. **Biodegradação e preservação da madeira.** 5. ed. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 2001. 94p. (Série Didática 01/01).

SANTOS, Z. M. **Avaliação da durabilidade natural da madeira de *Eucalyptus grandis* W. Hill: Maiden em ensaios de laboratório.** 1992. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

SGAI, R. D. **Fatores que afetam o tratamento para preservação de madeiras.** 2000. 122f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

SILVA, C. A. **Análise da composição da madeira de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-Brasil):** subsídios para o entendimento de sua estrutura e resistência a organismos xilófagos. 2007. 120f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SILVA, E. Os plantios florestais no Brasil. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4.; e CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO, 1., 1993, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBS/SBEF, 1993, v. 2. p. 719.

SILVA, J. C. **Caracterização da madeira de *Eucalyptus grandis* Hill ex. Maiden, de diferentes idades, visando a sua utilização na indústria moveleira.** 2002. 160f Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

SILVA, J. C. **Anatomia da madeira e suas implicações tecnológicas.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 140p.

SINGLETON, L. L.; MIHAIL, J. O.; RUSH, C.M. **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi.** New York: APS Press. 1992. 266p.

TUITE, J. **Plant pathological methods: fungi and bacteria.** Minneapolis: Burgess Publish Company, 1969. 239 p.

TRUGILHO, P. F. et al. Influência da idade nas características físicas, químicas e anatômicas da madeira de *Eucalyptus grandis*. In: INFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENTOP EUCALYPTUS, 4., 1997, Salvador. **Proceedings...** Colombo: Embrapa, Centro Nacional de Pesquisas de Florestas, 1997. v.1. p. 269-275.

ZABEL, R. A.; MORRELL, J. J. **Wood microbiology**: decay and its preservation. San Diego: Academic Press, 1992.474p.

ZOBEL, B. J.; VAN BUIJTENEN, J. P. **Wood variation**: its causes and control. New York: Springer-Verlag, 1989. 363 p.

## **CAPÍTULO I**

### **COLETA, ISOLAMENTO, SELEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS XILÓFAGOS OBTIDOS DE CEPAS DE EUCALIPTO DETERIORADAS**

## RESUMO

Objetivou-se com a pesquisa coletar, isolar, selecionar e identificar a partir de fragmentos de madeira de cepas apodrecidas de eucaliptos, fungos com potencial de deteriorar madeiras, para serem utilizados posteriormente em um ensaio de apodrecimento acelerado. Amostras de tocos de eucalipto em decomposição foram coletadas em plantios de *Eucalyptus* spp. em três municípios com microclimas e altitudes diferentes e acondicionadas em sacos de papel poroso e transportadas para o Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), no Departamento de Engenharia Florestal (DEF), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) no município de Jerônimo Monteiro, ES. Das amostras foram retirados fragmentos de madeira para realizar o isolamento indireto de fungos e posteriormente a obtenção de culturas puras. Para realização dos isolamentos dos fungos foi utilizado o meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA). Nove culturas puras foram isoladas e identificadas. Foram obtidas culturas pertencentes à Classe dos Basidiomycetes e dos fungos mitospóricos dos gêneros *Trichoderma*, *Lasiodiplodia*, *Penicillium*, estas foram selecionadas, repicadas BDA contido em placa de Petri e tubos de ensaio e armazenadas no LCM em sala climatizada a  $25 \pm 2$  °C, no escuro, para que fossem posteriormente utilizadas no ensaio de apodrecimento acelerado.

**Palavras chave:** Cepas apodrecidas de *Eucalyptus* spp. Culturas puras. Fungos xilófagos.

## ABSTRACT

This research aimed to collect, isolate, select and identify from fragments of wood of stumps decayed of eucalypts, fungi with potential to deteriorate wood, to be used later in an accelerated laboratory test decay. Samples of stumps of eucalypts in decomposition were collected in stumps of *Eucalyptus* spp. in three municipalities with microclimates and different altitudes and placed in paper bags porous and transported to the Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), in the Departamento de Engenharia Florestal(DEF), belonging to the Centro de Ciências Agrárias (CCA) of the Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) in the municipality of Jerônimo Monteiro, ES, Brazil. The samples were removed from fragments of wood, to hold the insulation indirect of fungi and subsequently to obtain pure cultures. For completion of the isolates of the fungi was used the culture medium potato-dextrose-agar (PDA). Cultures were obtained from belonging to the Class Basidiomycetes fungi and mitosporicos of the genera *Trichoderma*, *Lasiodiplodia*, *Penicillium*, these were selected and subcultured PDA contained in Petri dishes and test tubes and stored at LCM in acclimatized room at  $25 \pm 2$  °C, in the dark, for which were later used in accelerated laboratory test decay.

**Keywords:** Decayed stumps of *Eucalyptus* spp. Pure Cultures. Wood decay fungi.

## 1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos encontrados nos mais variados substratos, entre os quais se destaca a madeira que atualmente representa o principal produto florestal, sendo um dos materiais orgânicos mais importantes, complexos e versáteis que se conhece. Por causa da constituição anatômica e química que possui, ela pode sustentar uma rica comunidade de espécies de fungos e de outros microrganismos (DIX e WEBSTER, 1995).

A deterioração da madeira pode ocorrer pela ação de agentes físicos, químicos e biológicos. Os agentes biológicos merecem maior atenção, uma vez que são os causadores de maiores prejuízos ao setor florestal e madeireiro. E dentre os agentes biológicos se destaca a ação de microrganismos fúngicos, cujo início de ataque pode ocorrer na árvore antes de ser abatida e nas diversas fases posteriores ao abate: corte, transporte, desdobramento, armazenamento e utilização final da madeira (OLIVEIRA et al., 1986; MORESCHI, 1996). O ataque pode ser por diferentes grupos de agentes fúngicos, na forma de manchamentos superficiais e internos e as podridões.

Os microorganismos xilófagos podem interferir nas propriedades físicas, mecânicas e químicas da madeira. Geralmente, os primeiros fungos a colonizarem as árvores recém-abatidas são os emboloradores e os manchadores de madeira. Dependendo da espécie botânica florestal, dos fatores ambientais e dos tratamentos químico ou físico, os fungos podem ocupar toda a superfície da tora, em menos de 48 horas (OLIVEIRA et al., 1986).

O ataque dos fungos emboloradores é superficial, comprometendo o aspecto visual da madeira, pois há um crescimento acentuado de hifas sobre a superfície, que podem penetrar profundamente no alburno, por serem hialinas, essas hifas não afetam a coloração da madeira (OLIVEIRA et al., 1986). A passagem das hifas dos fungos de uma célula a outra ocorre através das pontoações, com o conseqüente rompimento da membrana da pontoação ou do torus.

A madeira atacada por fungos emboloradores apresenta, em sua superfície, área de aspecto pulverulento, constituída de massa de esporos, que

pode ser facilmente removida por raspagem. A coloração varia com a espécie de fungo, variando entre cinza, verde e amarelo. Dentre os agentes causadores do manchamento superficial estão os fungos mitospóricos do gênero *Penicillium* e *Trichoderma*, da Classe Hyphomycetes, que são saprófitas de esporulação abundante, eles tem como características particulares conídios muito pequenos, unicelulares e são facilmente disseminados pelo ar. Por isso são considerados contaminantes aéreos de diversos ambientes, em todo o mundo, por serem cosmopolitas (FURTADO, 2000).

Para que ocorra o desenvolvimento dos fungos, eles necessitam de condições favoráveis. Os mofos, por exemplo, só crescem superficialmente em ambientes quentes, úmidos e abafados podendo permanecer na madeira em estado latente. Esses organismos não se proliferam até que a madeira umedeça novamente, quando voltam a crescer e se multiplicarem (MORESCHI, 1996).

Os fungos causadores de manchas internas nas madeiras apresentam hifas pigmentadas ou hifas hialinas que podem secretar substâncias coloridas. A madeira atacada por estes fungos apresenta, no alburno, áreas de coloração variável, geralmente de azul a cinza escuro, que são observadas em cortes transversais e distribuem-se radialmente. As manchas, que podem ser superficiais ou profundas, depreciam a qualidade e o valor comercial da madeira (OLIVEIRA et al., 1986).

Aqueles capazes de causar de manchas internas nas madeiras, não têm a capacidade de decompor a parede celular destas, normalmente, eles crescem nas células parenquimatosas do alburno, onde produzem suas hifas escuras, causando manchas acinzentadas a azuladas, conhecidas como azulamento da madeira, ou mesmo azulão ou mancha azul. Estas manchas ocorrem em função do crescimento no interior da madeira, de hifas pigmentadas deste grupo de fungos (OLIVEIRA et al., 1986).

Os fungos manchadores internos ocorrem, frequentemente, em toras recém-cortadas e em peças de madeira serrada, durante a secagem, ou mesmo após a secagem no reumidecimento das peças. Em árvores vivas e saudáveis não são muito comuns, mas podem ocorrer em árvores senescentes. Dentre os principais degradadores deste tipo estão os gêneros de

fungos mitospóricos, da Classe Coelomycetes: *Lasiodiplodia*, *Ophiostoma*, *Graphium*, *Diplodia* (FURTADO, 2000). A maioria destes organismos não é capaz de perfurar as paredes das células e dependem de aberturas naturais entre as mesmas para penetrarem na madeira e do rompimento mecânico das membranas das pontoações.

Alguns fungos manchadores internos são capazes de atravessar a parede celular, graças à formação de apressórios, o que sugere um mecanismo de penetração mecânica, não envolvendo ataque químico. As hifas penetram profundamente no alburno e absorvem as substâncias de reserva existentes no lume das células (FURTADO, 2000).

Os principais fungos causadores de podridões são pertencentes à Classe dos Basidiomycetes. Dentre esses se destacam os causadores da chamada podridão parda, que destroem os polissacarídeos da parede celular, e os de podridão branca, que, além de polissacarídeos, destroem também a lignina (TEIXEIRA et al., 1997).

Segundo Lepage (1986), a madeira atacada por fungos de podridão parda apresenta-se em estágios iniciais ligeiramente escurecida, assumindo uma coloração pardo-escura à medida que o apodrecimento progride. Pode ser observada também a presença de grupos de células intensamente deterioradas, envolvidas por células pouco atacadas. A madeira atacada por estes fungos apresenta uma redução na sua massa específica, tornando-a mais permeável ao ataque de microrganismos e higroscópica, além de sua resistência ao impacto também ser diminuída.

A madeira atacada por fungo de podridão branca, além de deteriorar a celulose e hemicelulose, ataca também a lignina da parede celular, apresentando-se mais clara e com a superfície atacada mais macia do que a madeira sadia (LEPAGE, 1986). Wetzstein et al. (1999) relataram que as atividades ocorrentes em materiais atacados por podridão branca são atribuídas às enzimas, como a lignina peroxidase, lacase e manganês peroxidase, que catalisam a deterioração via difusão de agentes oxidantes ou mediadores específicos.

A podridão parda provoca uma diminuição nas características mecânicas da madeira mais rapidamente que a podridão branca, enquanto a

diminuição na massa específica, ao final do processo, é maior nesta última (LEPAGE, 1986).

O presente trabalho teve como objetivos coletar, isolar, selecionar e identificar a partir de fragmentos de madeira de cepas apodrecidas de eucaliptos, fungos com potencial de deteriorar madeiras de *Eucalyptus* spp.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. LOCALIZAÇÃO E DESCRIÇÃO DA ÁREA E DO MATERIAL COLETADO

A diversidade dos fungos lignocelulolíticos foi analisada a partir de coletas de materiais de varias cepas, realizadas entre os meses de agosto e setembro de 2010 em três municípios, Cachoeiro de Itapemirim – ES, Guaçuí - ES e Espera Feliz - MG . Segundo a classificação de Köppen-Geiger, o clima desses municípios é Cwa – clima sub tropical úmido, com estação chuvosa no verão e seca no inverno.

A Fazenda Bananal do Sul (Latitude de 26°07'68" W, Longitude de 77°01'38" S), localizada em Pacotuba, distrito de Cachoeiro de Itapemirim – ES, apresenta o relevo com variações de fortemente ondulado a montanhoso, com altitudes variando entre 70 e 130 metros. A temperatura média anual é de 24 °C. Os materiais coletados neste município foram provenientes de cepas deterioradas de clones de eucalipto resultantes do cruzamento entre *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden e *E. urophylla* S.T. Blake, com idade de aproximadamente 5 anos (Figura 1), sendo quatro anos de plantio e um ano após o corte.



Figura 1. Cepa de eucalipto a partir da qual foram coletados materiais para o presente trabalho (Fazenda Bananal do Sul, Pacotuba, Distrito de Cachoeiro de Itapemirim – ES).

Localizada no Córrego do Patrimônio em Guaçuí – ES, a Fazenda São Sebastião (Latitude de 22°88'76" W, Longitude de 77°06'79" S), possui seu relevo bastante acidentado, a altitude oscila entre 600 e 1.000 metros. A temperatura média anual é de 20 °C. As amostras coletadas, também foram clones de eucaliptos, resultantes do cruzamento entre *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden com *E. urophylla* S.T. Blake. Os clones encontravam-se com idade de aproximadamente 5 anos, sendo quatro anos de plantio e um ano após o corte (Figura 2).



Figura 2. Cepa de eucalipto a partir da qual foram coletados materiais para o presente trabalho (Fazenda São Sebastião, Córrego do Patrimônio, Distrito de Guaçuí – ES).

A Fazenda Paraíso (Latitude de 20°53'35" W, Longitude de 77°25'55" S), situada na Zona Rural de Espera Feliz – MG é parte integrante do maciço do Caparaó, possui seu relevo muito acidentado, a altitude oscila entre 900 e 2.000 metros, com temperatura média anual de 19 °C. A precipitação pluviométrica anual é em média de 1.595mm. O material coletado pertencia à espécie *Eucalyptus grandis*, com idade de aproximadamente 20 anos, sendo 18 anos de plantio e dois anos após o corte. A cepa da qual as amostras foram coletadas se encontrava, localizada à aproximadamente 925 metros de altitude (Figura 3).



Figura 3. Cepa de eucalipto a partir da qual foram coletados materiais para o presente trabalho (Fazenda Paraíso, Espera Feliz – MG).

## 2.2. ARMAZENAMENTO E PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras coletadas foram devidamente identificadas, acondicionadas em sacos de papel poroso e transportadas para o Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), localizado no Departamento de Engenharia Florestal (DEF) pertencente ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), localizado em Jerônimo Monteiro, no Estado do Espírito Santo.

O preparo das amostras foi realizado no Laboratório de Usinagem da Madeira (LUM) do DEF, este consistiu na transformação das cepas em pequenos fragmentos de madeira (Figura 4).

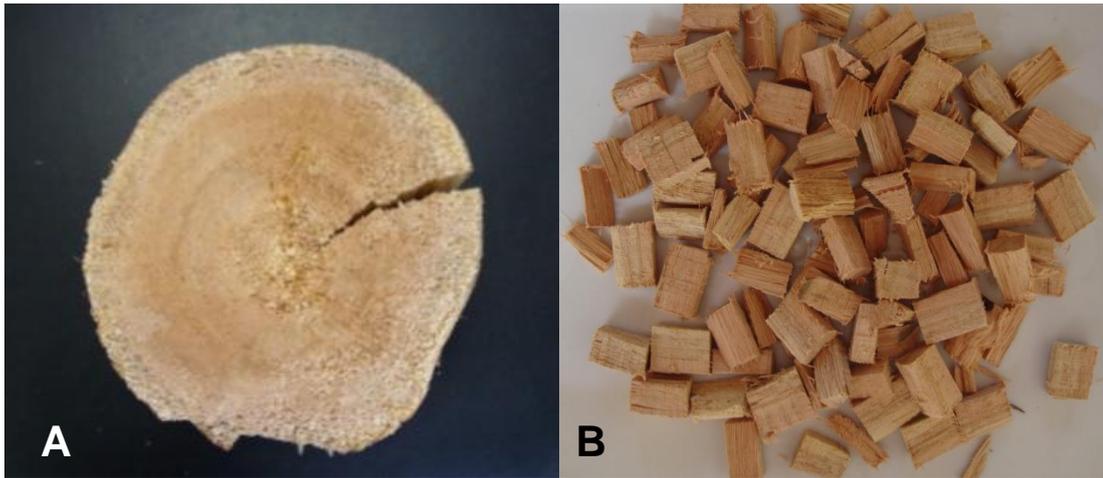


Figura 4. Disco (A) transformado em pequenos fragmentos de madeira (B).

### 2.3. ISOLAMENTO INDIRETO E DIRETO DOS FUNGOS PRESENTES NAS CEPAS

Com o intuito de obter isolamento fúngico de forma indireta, fragmentos de tecido de madeira, foram retirados da área de transição, localizada entre a porção sadia e aquela em decomposição e posteriormente desinfestados em solução de hipoclorito de sódio 0,2% por 30 segundos, lavados em água destilada esterilizada, passados rapidamente pela chama de gás e transferidos assepticamente para placas de Petri contendo meio de cultura BDA estéril. As placas de Petri foram lacradas com fita plástica ("Parafilm M"), mantidas em sala climatizada, que apresentava temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $60 \pm 5\%$ , embaladas em folhas de papel para permanecerem no escuro, até a observação de crescimento micelial, para realizar o isolamento direto.

Para o isolamento direto dos fungos, procedeu-se uma transferência, com o auxílio de um estilete, de estruturas do patógeno (esporos e hifas) para meio BDA contido em placas de Petri. Estas foram lacradas com fita plástica, embaladas em folhas de papel para permanecerem no escuro e mantidas em sala climatizada a uma temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $60 \pm 5\%$  até a observação de crescimento micelial, quando as culturas foram sucessivamente repicadas para placas de Petri com meio de BDA até a obtenção de culturas puras.

## 2.4. ARMAZENAMENTO DAS CULTURAS E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

As culturas obtidas pelo isolamento direto foram transferidas para Placas de Petri e tubos de ensaio contendo BDA, armazenadas no LCM a uma temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $60 \pm 5\%$ , no escuro, para serem utilizadas posteriormente em ensaios de laboratório.

Para a identificação dos fungos foram feitas observações macroscópicas das culturas e microscópicas em lâminas semipermanentes preparadas com lactofenol. Com emprego de um microscópio óptico foram feitas observações das estruturas reprodutivas dos fungos. Para alguns fungos foram preparadas microculturas conforme descrito por Fernandez (1993), visando observar detalhes das estruturas, particularmente importantes para que a identificação fosse a mais precisa possível. As características macroscópicas e microscópicas foram comparadas com às descritas em bibliografia especializada (RIFAI, 1969; BOOTH, 1971; SAMSON, 1974; CARMICHAEL, et al., 1980; HALIN, 1997; 1998; BARNETT e HUNTER, 1998).

A etapa de comparação microscópica foi realizada no Laboratório de Fitopatologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) no CCA da UFES, localizado em Alegre - ES.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras retiradas a partir das cepas de eucaliptos deterioradas nos três municípios amostrados, foram obtidos nove isolados fúngicos associados às amostras de madeiras, sendo provenientes de três culturas puras de cada localidade (Figuras 5, 6 e 7). Os fungos foram identificados macroscópica e microscopicamente, como recomendados por, Barnett e Hunter (1998), em nível de gênero e incluídos em seus respectivos grupos.



Figura 5. Placas de Petri com os fungos isolados em cepas de eucalipto na Fazenda Bananal do Sul. Pacotuba distrito de Cachoeiro de Itapemirim - ES A e B - Basidiomicetos e C - *Trichoderma* sp.



Figura 6. Placas de Petri com os fungos isolados em cepas de eucalipto na Fazenda São Sebastião. Córrego do Patrimônio distrito de Guaçuí - ES. D - *Lasiodiplodia* sp.; E - Basidiomicetos e F - *Trichoderma* sp.

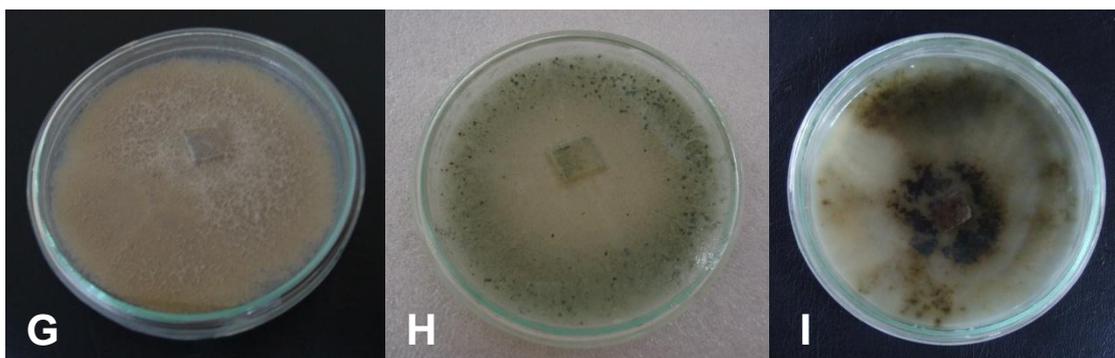


Figura 7. Placas de Petri com os fungos isolados da Fazenda Paraíso. Espera Feliz - MG. G - *Penicillium* sp.; H - *Trichoderma* sp. e I - *Trichoderma* sp..

Dos nove isolados de fungos associados às amostras de madeira, o gênero *Trichoderma* foi o de maior ocorrência e apresentou diversidade de espécies, tendo sido isolado em duas amostras provenientes da Fazenda Paraíso, uma na Fazenda Bananal do Sul e uma na Fazenda São Sebastião. O gênero *Penicillium* foi isolado de amostras da Fazenda Paraíso (Figuras 5, 6 e 7).

Os fungos causadores de manchas superficiais, também denominados fungos emboloradores, nutrem-se a partir de substâncias de reserva do lume celular, não afetando a parede celular, portanto, não comprometendo a resistência mecânica da madeira. O ataque é superficial, comprometendo apenas o aspecto visual, pois há um crescimento acentuado de hifas sobre a superfície, deixando-as com aspecto algodado, cuja coloração varia com a espécie de fungo a que pertence, sendo removíveis. Estes fungos crescem nutrindo-se de substâncias solúveis, como: açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos que extravasam das células parenquimatosas danificadas pelo corte (FURTADO, 2000).

Os fungos emboloradores não são capazes de atacar a superfície da madeira em umidades abaixo do ponto de saturação das fibras ( $\pm 30\%$ ), sendo por isso, seu ataque comum em toras recém-cortadas, peças recém-serradas ou madeiras expostas em ambiente com alta saturação de umidade (GALVÃO e JANKOWSKY, 1985).

Dix e Webster (1995) consideram os fungos *Trichoderma* spp. e *Penicillium* spp. como emboloradores de madeira. Ye et al. (1993) isolaram os fungos *Trichoderma*, *Penicillium*, entre outros, de madeira de *Pinus* selecionadas.

Segundo Furtado (2000), além de alterar o aspecto visual, fungos do gênero *Penicillium*, podem produzir toxinas como: citrinas, patulinas, ocratoxinas, aflatoxinas, que são tóxicas ao homem e animais, além de serem oportunistas aos mesmos em infecções respiratórias, quando estes se encontram imunodeficientes. As condições para a produção de toxinas variam de acordo com o substrato e da espécie do fungo presente, o que torna estes fungos potencialmente perigosos quando a madeira contaminada é utilizada para compor embalagens de produtos alimentícios ou de produtos que servirão para embalar alimentos.

O gênero *Lasiodiplodia* pertence ao grupo dos fungos manchadores internos, tendo sido isolados de amostras provenientes da Fazenda São Sebastião localizada no município de Guaçuí - ES.

Os fungos causadores de manchas internas uma vez, em contato com a parte interna da madeira, causam o manchamento ou azulamento da mesma (TALBOT, 1977). Na África e no Brasil *Lasiodiplodia theobromae* foi relatado como agente causal da mancha azul de madeiras (ENCIÑAS, 1996).

Nas coníferas, as hifas colonizam exclusivamente as células do parênquima radial e raramente são observadas nos traqueídeos (FURTADO, 2000). Estes, também, não alteram a densidade ou resistência da madeira, apenas a estética é comprometida. Oliveira et al. (1986) apontaram que o alburno de *Pinus*, internamente manchado, pode apresentar redução de 1 a 2% na densidade, 2 a 10% na dureza, 1 a 5% na resistência à flexão e de 15 a 30% na resistência ao impacto, além da madeira se apresentar muito mais permeável que a madeira sadia. Dessa forma, a utilização deste tipo de madeira deve ser restringido. Por causa da alta velocidade de penetração das hifas no material lenhoso, quanto mais rápido a madeira for tratada, seca e preservada com aplicação de agentes químicos em melhor estado ficará (MORESCHI, 1996).

Para Käärik (1975), uma mesma espécie de fungo pode atuar de forma diferente de acordo com as circunstâncias. Além disso, os fungos emboloradores e manchadores ocorrem quase que concomitantemente, ocupando nichos ecológicos bastante próximos (OLIVEIRA et al., 1986). Käärik (1975) acrescentou que, geralmente, a distinção entre fungos emboloradores e manchadores está embasada em suas atividades enzimáticas, as quais diferenciam os principais grupos fisiológicos que preenchem sucessivamente os diferentes nichos ecológicos existentes na madeira, não discriminando, necessariamente, grupamentos taxonômicos. Portanto, nem sempre é possível separar ou discernir com clareza se o fungo provoca bolor ou mancha na madeira, sem um estudo histológico.

Sob certas circunstâncias, fungos emboloradores e manchadores podem ser antagônicos a fungos degradadores, principalmente se eles forem os colonizadores pioneiros (HULME e SHIELDS, 1975).

Vários estudos explorando essa linha de pesquisa têm sido realizados. Brown e Bruce (1999) estudaram o potencial do *Trichoderma viride* como antagonista a fungos degradadores de madeira. Schoeman et al. (1993) observaram que *T. harzianum* reduziu a quantidade de fungos apodrecedores em toras de *Pinus* sp. e Messner et al. (1996) observaram que madeiras infestadas com *T. harzianum* mostraram resistência a fungos degradadores, principalmente aos fungos da podridão parda.

#### 4. CONCLUSÕES

Os fungos decompositores isolados das cepas de eucaliptos provenientes dos locais de estudo variaram em espécie em função das características dos locais provenientes.

Das cepas foi possível o isolamento de nove culturas puras de fungos xilófagos, sendo estes três de cada localidade.

A identificação dos fungos permitiu separá-los em grupos sendo três fungos pertencentes à Classe Basidiomycetes, quatro ao gênero *Trichoderma*, um *Penicillium* e um *Lasiodiplodia*.

Dos fungos isolados, cinco (quatro *Trichoderma* sp. e um *Penicillium* sp.) provocam manchas externas (manchadores) e um (*Lasiodiplodia* sp.) causa mancha interna (embolorador) na madeira.

Os Basidiomicetos não puderam ser classificados em nível de gênero por que as culturas armazenadas em placas de Petri contendo meio de cultura BDA não produziram esporos, não sendo possível sua identificação.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1998. 218p.

BOOTH, C. **The genus *Fusarium***. New England: International Mycological Institute, 1971. 237p.

BROWN, H. L.; BRUCE, A. Assessment of the biocontrol potential of a *Trichoderma viride* isolate. Part I: Establishment of field and fungal cellar trials. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Berlin, v. 44, p. 219 - 223, 1999.

CARMICHAEL, J. W, et. al. **General of *Hyphomycetes***. Alberta: The University of Alberta Press, 1980. 386p.

DIX, N. J.; WEBSTER, J. **Fungal ecology**. London: Chapman & Hall, 1995. 549 p.

ENCIÑAS, O. **Development and significance of attack by *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in Caribbean pine wood and some other wood species**. 1996. 107f. Thesis (Phylosophae Doctor in Agriculture) - Sweden University Agriculture Science, Uppsala, 1996.

FURTADO, E. L. Microorganismos manchadores da madeira. In: SIMPÓSIO DO CONE SUL SOBRE MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS DE *Pinus*,1.,2000, Piracicaba, **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 13, n. 33, p. 91– 96, 2000.

GALVÃO, A. P. M.; JANKOWSKY, I. P. **Secagem racional da madeira**. São Paulo: Nobel, 1985. 111p.

HANLIN, R. T. **Illustrated genera *Ascomycetes***. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1997. v. 1, 263p.

HANLIN, R. T. **Illustrated genera *Ascomycetes***. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1998. v. 2, 258p.

HULME, M. A.; SHIELDS, J. K.. Antagonistic and synergistic effects for biological control of decay, In: Liese, W. (Ed.). **Biological transformation of wood by microorganism**. Berlin: Springer-Verlag, p.52-63. 1975.

KÄÄRIK, A. Decomposition of wood. In: Dickinson, C. H.; Pugh, G. J. F. (Eds.). **Biology of plant litter decomposition**. London: Academic Press, 1975, v. 1, p.129-174.

MESSNER, K.; et al. State of development of the LCT method of wood preservation. **Holz**, Zentralblatt, v. 122, n. 15, p. 232-233, 1996.

- MORESCHI, J. C. Biodeterioração e preservação da madeira. **Revista da madeira**, São Paulo, v. 8, n. 43, p.46-52, 1996.
- OLIVEIRA, A. M. F. et al. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT, 1986, v.1, p.99-278.
- RIFAI, M. A. A revision of the genus *Trichoderma*. **Mycological Papers**, London, n.116, p 1- 116, 1969.
- SAMSON, R. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. **Studies in Mycology**, Baarn, v. 6, n. 6, p. 1-119. 1974.
- SCHOEMAN, M. W.; WEBBER, J. F.; DICKINSON, D. J. Chain-saw application of *Trichoderma harzianum* Hifai to reduce fungal deterioration of freshly felled pine logs. **Material und Organismen**, Berlin, v. 28, n. 4, p. 243-250, 1993.
- TALBOT, P. H. The *Sirex-Amylostereum-Pinus* association. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.15, p.41-54, 1977.
- TEIXEIRA, D. E. et al. Aglomerados de bagaço de cana-de-açúcar: resistência natural ao ataque de fungos apodrecedores. **Scientia Forestalis**, Picacicaba, n.52, p. 29-34, 1997.
- WETZSTEIN, H. G. et al. Degradation of ciprofloxacin by basidiomycetes and identification of metabolites generated by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n.4, p. 1556-1563, 1999.
- Ye, W.; Zhang, Q.; Hong, S.; Zhu, D. Studies on fungi associated with *Bursaphelenchus xylophilus* on *Pinus massoniana* in Shenzhen, China. **Afro-Asian Journal of Nematology**, Luton, v.3, n.1, p. 47-49, 1993.

## **CAPÍTULO II**

### **CAPACIDADE DE DETERIORAÇÃO DA MADEIRA DE *Eucalyptus* spp. POR FUNGOS XILÓFAGOS**

## RESUMO

Os objetivos da pesquisa foram avaliar a capacidade de deterioração dos fungos isolados das madeiras de *Eucalyptus* spp. e realizar a análise química da madeira deteriorada pelos fungos, para verificar quais os componentes da madeira sofreram maiores alterações em função do ataque. O experimento foi conduzido no Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), no Departamento de Engenharia Florestal (DEF), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) no município de Jerônimo Monteiro, ES. Doze fungos foram utilizados, sendo destes, nove culturas puras isoladas a partir de fragmentos de cepas de madeiras de eucalipto deterioradas e três culturas puras com reconhecida capacidade de deterioração que foram utilizados como padrão de comparação. A perda de massa das amostras foi o parâmetro utilizado para discriminar o poder de deterioração dos fungos estudados. Foram isolados, selecionados e identificados nove fungos, tendo os fungos Basidiomicetos 1 e 2 apresentado boa capacidade de deterioração de *Eucalyptus* spp. O cerne da madeira de eucalipto apresentou maior resistência natural que o alburno, mas os organismos xilófagos (fungos) foram capazes de degradar ambas as madeiras. Nos clones testados, de modo geral, houve um incremento no teor de extrativos totais na madeira deteriorada (cerne e alburno), para ambos Basidiomicetos testados. Nas madeiras de cerne de *E. grandis* houve decréscimo no teor de extrativos para ambos Basidiomicetos. Com relação à holocelulose (celulose + hemiceluloses), ocorreram pequenas diferenças entre as madeiras sadias e deterioradas (variações médias em torno de 1%). Dos fungos testados, o Basidiomiceto 2 causou maior degradação da lignina quando comparado ao Basidiomiceto 1.

**Palavras chave:** Cepas apodrecidas. Culturas puras. Fungos xilófagos.

## ABSTRACT

This research aimed to test the deteriorating ability of fungi isolated from the woods of *Eucalyptus* spp. and perform chemical analysis of wood deteriorated by fungi, to verify which components of wood suffered major changes in the light of the attack. The experiment was conducted in Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), in the Departamento de Engenharia Florestal (DEF), belonging to the Centro de Ciências Agrárias (CCA) of the Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) in the municipality of Jerônimo Monteiro, ES, Brazil. A total of twelve fungi were used, and nine of these pure cultures isolated from fragments of stumps of eucalypt woods deteriorated and three with recognized capacity of deterioration that were used as the standard of comparison. The loss of mass of the samples was the parameter used to discriminate against the power of the deterioration of the fungi studied. They were isolated, selected and identified nine fungi, having the Basidiomycetes fungi 1 and 2 presented good capacity of deterioration of *Eucalyptus* spp. The hardwood of eucalypt showed a greater natural resistance than the sapwood, but the bodies rot (fungi) were able to degrade both the wood. To the tested clones, in general, there were, an increase in the content of extractives in wood damaged (and sapwood), for both Basidiomycetes tested. The wood core of *E. grandis* there was a decrease in extractives content for both Basidiomycetes. With respect to holocelulose (cellulose more hemicelluloses), there were small differences between the healthy and damaged timber (mean variations around 1 %). The Fungi, Basidiomycete 2 caused a greater degradation of lignin when compared to the Basidiomycete 1.

**Keywords:** Decayed stumps. Pure Cultures. Wood decay fungi.

## 1. INTRODUÇÃO

Por ser um material de origem orgânica, por causa da sua constituição química e estrutura, a madeira esta sujeita a deterioração de vários organismos biodeterioradores, dentre estes se destacaram os fungos e os térmitas que são responsáveis pelos maiores danos causados à madeira (HUNT e GARRATT, 1967; CAVALCANTE, 1982; PAES 2002).

A resistência da madeira à deterioração é a capacidade inerente à espécie de resistir à ação de agentes deterioradores, incluindo agentes biológicos, físicos e químicos (PAES, 2002). Essa resistência é atribuída à presença de substâncias no lenho, que podem ser tóxicas a fungos e a insetos xilófagos (FERREIRA, 2004). Em algumas espécies, apenas um composto químico é o responsável pela resistência, enquanto em outras, vários componentes atuam de modo sinérgico, para garantir a madeira sua durabilidade natural (OLIVEIRA et al. 1986).

Geralmente existe uma grande diferença de resistência entre o cerne e o alburno. O cerne esta localizado na parte interior da tora e o alburno na parte externa, sendo a interna normalmente mais resistente. No entanto, há variação entre as espécies. Para Oliveira et al. (2005a), a quantidade e a qualidade dos extrativos são bastante variáveis de espécie para espécie. As variações nos teores dessas substâncias são evidentes entre indivíduos dentro de uma mesma espécie, variando do cerne mais interno para o recém formado, sendo mais efetivo neste último. Também, quanto aos tipos de solventes, os quais solubilizam os extrativos de caráter fungicida e inseticida nas madeiras de elevada durabilidade natural, são amplamente variáveis e dependentes das espécies.

Segundo Paes et al. (2004), o conhecimento da resistência natural das madeiras é importante para recomendação do uso mais adequado, poupando gastos desnecessários com substituição de peças e reduzindo os impactos ao meio ambiente.

Nenhuma madeira é capaz de resistir, indefinidamente, às intempéries e variações das condições ambientais (SILVA et al., 2005). De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Madeira Processada Mecanicamente

(ABIMCI), a vida útil da madeira maciça ou reconstituída varia dependendo da espécie, da quantidade de alburno presente, do seu uso e das condições ambientais às quais está exposta (ABIMCI, 2004).

Logo, a deterioração da madeira pode ocorrer por ação de agentes físicos, como o fogo (calor) e umidade, químicos, relacionados à ação de substâncias ácidas ou básicas, mecânicos, pelo atrito ou impacto, há o desgaste na madeira, físico-químico, em decorrência da poluição ambiental e intemperismo, e biológicos pela ação de fungos, insetos, moluscos, crustáceos e bactérias (SILVA et al., 2005). Os agentes biológicos são os causadores de maiores prejuízos à utilização da madeira (SGAI, 2000).

Os fungos são exemplos de xilófagos mais comuns, podendo decompor totalmente a madeira ou apenas causar manchas, de modo que podem ser classificados como apodrecedores, emboloradores e manchadores (ROCHA, 2001). No Brasil, um país de clima tropical, onde a média de temperatura é de 25°C e pluviosidade anual podendo chegar a 3.000 mm em algumas regiões, e com uma grande biodiversidade de flora e fauna, os processos naturais de deterioração da madeira são ainda mais acelerados, isso porque em condições ambientais favoráveis de umidade, temperatura, aeração, haverá favorecimento do surgimento de um ou mais agentes xilófagos.

Para Oliveira et al. (2005b) entre os fungos responsáveis pelo apodrecimento da madeira, destacam-se aqueles pertencentes à classe dos Basidiomicetos, na qual se encontram os fungos responsáveis pela podridão parda e podridão branca, que possuem características enzimáticas próprias, quanto à decomposição dos constituintes primários da madeira. Os primeiros decompõem os polissacarídeos da parede celular, e a madeira atacada apresenta uma coloração residual pardacenta. Os últimos atacam, indistintamente, tanto os polissacarídeos quanto a lignina. Nesse caso, a madeira atacada adquire um aspecto mais claro. Segundo Santos (1992), a madeira sob ataque de fungos apresenta alterações na composição química, redução da resistência mecânica, diminuição de massa, modificação da cor natural, aumento da permeabilidade, redução da capacidade acústica, aumento da inflamabilidade, diminuição do poder calorífico e maior propensão ao ataque

de insetos, comprometendo, dessa forma, a sua qualidade e inviabilizando a sua utilização para fins tecnológicos.

Os estudos sobre a durabilidade natural e restrições de uso da madeira de eucaliptos oriunda de plantios são importantes, porque fornecem informações básicas sobre a utilização dos seus produtos sob condições de exposição a fungos, já que estes estão entre os responsáveis pelos maiores danos econômicos causados à madeira.

Esta pesquisa teve como objetivos avaliar a capacidade de deterioração dos fungos isolados das madeiras de *Eucalyptus* spp., selecionar os de maior capacidade de deterioração para que, possam, futuramente serem utilizados na decomposição de tocos remanescentes de áreas reflorestadas com eucalipto e realizar a análise química da madeira deteriorada pelos fungos, para verificar quais os componentes da madeira sofreram maiores alterações em função do ataque dos fungos isolados.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. DETERMINAÇÃO DA RESISTÊNCIA NATURAL DA MADEIRA**

O experimento foi realizado no Laboratório de Ciência da Madeira (LCM), do Departamento de Engenharia Florestal (DEF) do Centro de Ciências Agrárias (CCA), da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), no município de Jerônimo Monteiro – ES. A determinação da resistência natural da madeira de *Eucalyptus* spp. a fungos xilófagos foi realizada por meio de um ensaio de apodrecimento acelerado em laboratório. Para realização deste, foram seguidas as recomendações da “American Society for Testing and Materials” ASTM D - 1413 (2005a).

#### **2.1.1. Espécies de madeira utilizadas**

Na condução do experimento foi utilizada a madeira de eucalipto. Para realizar o isolamento dos fungos, cepas de madeiras de eucaliptos deterioradas foram utilizadas e para confeccionar os corpos de prova para o ensaio em laboratório, madeiras da parte basal de toras sadias foram obtidas nas fazendas localizadas nos municípios de Guaçuí e Cachoeiro de Itapemirim. As amostras foram confeccionadas a partir de clones de eucalipto, resultantes do cruzamento entre *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden e *E. urophylla* S.T. Blake, muito cultivados em função do crescimento rápido, e também associado à tolerância a períodos de estiagem. Na fazenda Paraíso em Espera Feliz, as amostras utilizadas foram provenientes de *Eucalyptus grandis*.

#### **2.1.2. Preparação dos corpos de prova**

Os corpos de prova foram obtidos do cerne e alburno de madeiras *Eucalyptus* spp. e confeccionados nas dimensões de 1,9 x 1,9 x 1,9 cm (radial x tangencial x longitudinal). Foram utilizadas 576 amostras isentas de nós, gomas e resinas que receberam identificação numérica conforme posição (cerne e alburno), fungo testado e repetição.

### **2.1.3. Obtenção e manutenção dos fungos utilizados**

Foram utilizados 12 fungos, dos quais nove foram obtidos por meio das amostras coletadas no campo, a partir de cepas deterioradas de eucaliptos, e três provenientes do “Forest Products Laboratory, United State Departament of Agriculture”: *Postia placenta* (Fr.) Cook (Madison 698, ATCC n. 11538), *Trametes versicolor* (L.: Fries) Pilát (Madison 697, ATCC n. 12679) e *Gloeophyllum trabeum* (Pers. ex. Fr.) Murr. (Madison 617, ATCC n. 11539), que fazem parte do acervo do LCM e de reconhecida capacidade de deterioração, empregados como padrão de comparação.

As placas de Petri crescidas com meio BDA e com os fungos utilizados no experimento foram embaladas em folhas de papel e armazenadas em sala de incubação, esta apresentava temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $60 \pm 5\%$ .

### **2.1.4. Preparo do substrato**

Foram utilizados frascos de vidro com tampa rosqueável e capacidade de 500 mL, os quais foram preenchidos com 300 g de solo passados por peneira de 0,4 x 0,4mm, seco ao ar para eliminação de impurezas e quebra dos torrões. O pH e a capacidade de retenção de água foram de 7,14 e 37,45% respectivamente. Após o preenchimento dos frascos colocou-se 139 mL de água destilada ao solo, a fim de que a umidade deste fosse ajustada para 130% da sua capacidade de retenção de água. Foram adicionados nos frascos sobre o solo, dois alimentadores de madeira de *Pinus* sp. com 3mm de espessura, 28mm de largura e 33mm de comprimento, que foram secos em estufa, e sem qualquer tipo de tratamento preservativo para que após esterilizados em uma autoclave mantida a  $121 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (1,2 atm.) por 30 minutos e resfriados, fossem capazes de fornecerem condições mínimas para ocorrer a colonização da madeira pelos fungos que foram inoculados com as culturas fúngicas em estudo.

### **2.1.5. Repicagem dos fungos**

A repicagem dos fungos foi efetuada em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar), o qual foi preparado empregando-se a proporção de 200 g de batata, 20 g de dextrose, 17 g de ágar, 1.000 mL de água destilada. A repicagem dos fungos foi feita em capela de fluxo laminar. Procurou-se obter um pedaço de meio de cultura BDA de aproximadamente 1cm<sup>2</sup>, contendo micélios do fungo, estes foram transferidos pra placas de Petri contendo meio de cultura BDA, ambos estéreis e em condições assépticas. As placas de Petri com meio de cultura BDA e estruturas fúngicas, foram acondicionadas em uma sala de incubação por um período de 15 dias, de modo a proporcionar condições adequadas para o crescimento dos fungos.

### **2.1.6. Inoculação e incubação dos fungos**

Das culturas puras armazenadas, retirou-se um fragmento de meio de cultura BDA de aproximadamente 1cm<sup>2</sup>, contendo micélios do fungo, que foram adicionados sobre as placas alimentadoras. Depois de inoculados, os frascos retornaram à sala de incubação onde permaneceram por um período de 15 dias, necessários para que o micélio do fungo colonizasse de forma homogênea a superfície dos alimentadores.

### **2.1.7. Climatização e esterilização dos corpos de prova**

Para obtenção da massa inicial, antes do ataque dos fungos, os corpos de prova foram secos em estufa a  $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 72 horas, possibilitando que os resultados ao final do ataque dos fungos fossem obtidos nas mesmas condições. Efetuada a secagem completa, os corpos de prova foram colocados em um dessecador contendo sílica, por aproximadamente 15 minutos e pesados.

Antes da inoculação, os corpos de prova foram esterilizados em autoclave a  $121 \pm 2^{\circ}\text{C}$  (1,2 atm.) por 30 minutos e acondicionados em sala de incubação para que resfriassem.

### 2.1.8. Inoculação dos corpos de prova e período de ataque dos fungos

Em capela de fluxo laminar, os corpos de prova foram assepticamente introduzidos, com o auxílio de uma pinça, nos frascos contendo o fungo (Figura 1). Estes foram uniformemente distribuídos sobre a placa suporte, sendo colocados dois corpos de prova em contato com o fungo em cada frasco. Concluída a inoculação dos corpos de prova, os frascos retornaram à sala de incubação (Figura 4) onde permaneceram por um período de 12 semanas.

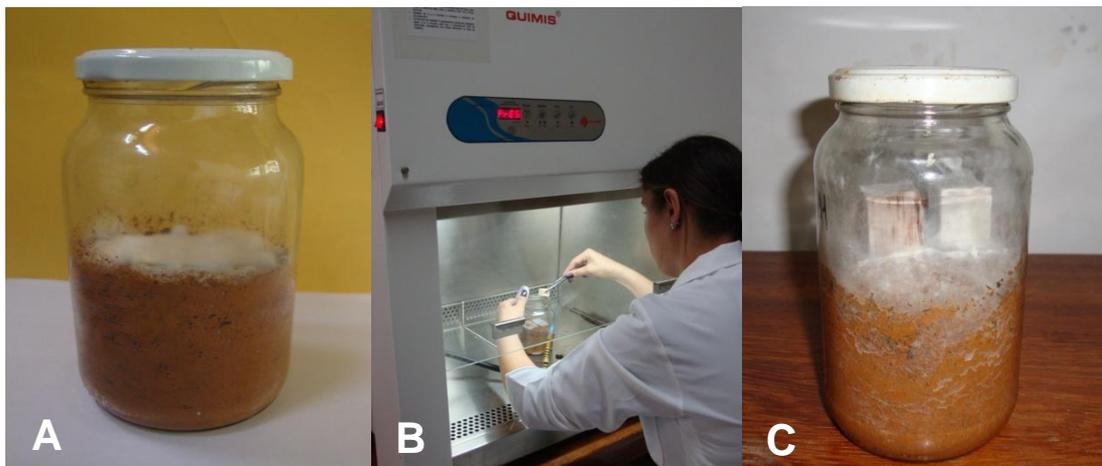


Figura 1. Introdução dos corpos de prova nos frascos. A - Frasco com fungo inoculado sobre as placas alimentadoras; B - Introdução dos corpos de prova nos frascos assepticamente; C - Frasco com corpos de prova já inoculados.

### 2.1.9. Retirada dos corpos de prova

Decorrido o período de ataque dos fungos (12 semanas), os corpos de prova foram retirados dos frascos de vidro e cuidadosamente limpos com o auxílio de uma escova de cerdas macias, para remoção dos micélios de fungo acumulados em sua superfície.

Posteriormente, os corpos de prova foram novamente secados, em estufa a  $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 72 horas, sendo pesados, para obter suas massas após o período de exposição ao ataque dos fungos.

### 2.1.10. Avaliação do poder de deterioração dos fungos testados

O poder de deterioração dos fungos foi avaliado em função da perda de massa que estes causaram nas amostras de madeiras ensaiadas. De posse dos dados referentes à massa inicial e final dos corpos de prova, as classes dos fungos isolados foram determinadas. A escala de degradação de fungos xilófagos está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Escala de degradação de fungos xilófagos

Perda de massa (%)	Massa Residual (%)	Classe de degradação
0 - 10	90 - 100	Altamente degradante
11 - 24	76 - 89	Degradante
25 - 44	56 - 75	Degradação moderada
≥ 45	≤ 55	Não degradante

Fonte: Adaptada da ASTM D-2017(2005b).

### 2.1.11. Determinação do teor de extrativos

Foram selecionadas amostras das madeiras não deterioradas e também as deterioradas pelos dois fungos isolados no campo que se mostraram mais agressivos. Amostras selecionadas foram transformadas em serragem e o teor de extrativos obtido ao empregar a fração que passou pela peneira de 40 e ficou retida na de 60 “mesh”. A serragem classificada foi climatizada à temperatura  $20 \pm 2$  °C e  $65 \pm 5\%$  de umidade relativa.

A determinação do teor de extrativos na madeira (solubilidade em álcool:tolueno (2:1 v/v)) foi efetuada segundo a M 3/89 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL - ABTCP, 1974). O teor de lignina foi determinado seguindo a metodologia descrita por Gomide e Demuner (1986) e feita leitura do filtrado restante da análise em espectrofotômetro para determinação da lignina solúvel em ácido. O teor de lignina total foi o resultado da soma da lignina residual mais a lignina solúvel em ácido. O teor de holocelulose foi obtido por diferença [% holocelulose =

100 – ( teor de extrativo + teor de lignina + cinzas na madeira)]. A determinação do teor de cinzas ou minerais da madeira foi efetuada segundo a M-11/77 (ABTCP, 1974).

Ao término de cada extração, os balões previamente pesados foram postos em estufa à temperatura de  $103 \pm 2$  °C, até massa constante, pesados em uma balança de 0,001g de precisão e por diferença de massa, determinado o teor de extrativos. As análises químicas para a determinação dos extrativos foram realizadas em duplicatas.

#### **2.1.12. Análises estatísticas**

Para possibilitar a análise estatística, os dados em porcentagem de perda de massa, foram transformados em  $\arcsen[\text{raiz}(\text{perda de massa}/100)]$ , conforme sugerido por Stell e Torrie (1980). Tal transformação foi necessária para permitir a homocedasticidade das variâncias. Na análise e avaliação dos ensaios foi empregado o teste de F para avaliar a significância. Para a comparação múltipla das médias, utilizou-se o teste de Tukey à 5% de significância para os valores e interações que foram significativos pelo teste F.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos xilófagos empregados e a perda de massa em porcentagem das madeiras utilizadas neste estudo estão apresentados na Tabela 2.

Pequenos valores de perda de massa foram encontrados em madeiras submetidas ao ataque de seis fungos pertencentes aos gêneros *Trichoderma* (quatro espécies), *Lasiodiplodia* e *Penicillium* (uma espécie). Segundo a Tabela 1 esses fungos são classificados como não degradantes, em função da baixa capacidade de deterioração que estes apresentam.

Tabela 2. Perda de massa média (%) da madeira causada pelos fungos xilófagos testados

Fungos Xilófagos	Perda de Massa (%) das Madeiras					
	Madeira 1		Madeira 2		Madeira 3	
	<i>E. grandis</i> X <i>E. urophylla</i>		<i>E. grandis</i>		<i>E. grandis</i> X <i>E. urophylla</i>	
	Alburno	Cerne	Alburno	Cerne	Alburno	Cerne
<i>Postia placenta</i>	46,62	33,68	45,93	34,21	33,01	20,60
<i>Trichoderma</i> sp.	0,80	0,01	0,69	0,23	0,52	1,07
<i>Trametes versicolor</i>	38,40	20,64	37,45	34,88	32,18	25,09
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	43,68	17,06	48,64	8,81	33,68	18,45
Basidiomiceto 1	34,69	5,13	25,51	1,86	25,09	9,44
<i>Trichoderma</i> sp.	0,82	0,28	0,58	0,11	0,98	0,81
Basidiomiceto 2	17,02	7,04	16,11	2,96	14,59	11,27
<i>Trichoderma</i> sp.	0,73	0,29	0,62	0,87	1,32	0,99
<i>Trichoderma</i> sp.	0,61	0,18	0,28	0,17	1,38	0,51
<i>Lasiodiplodia</i> sp.	4,28	0,21	0,64	1,91	1,13	0,41
Basidiomiceto 3	1,22	0,16	0,03	0,01	1,07	0,33
<i>Penicillium</i> sp.	0,76	0,35	0,50	0,66	0,88	0,91

Os fungos *Trichoderma* e *Penicillium* pertencem à Classe Hyphomycetes e são fungos capazes de provocar manchas externas na madeira. O fungo *Lasiodiplodia*, pertencente à Classe *Coelomycetes*, é capaz de causar manchas internas nas madeiras. Estes, normalmente são os primeiros a colonizarem a madeira, podendo ocupar toda a superfície de uma tora em menos de 48 horas (LEPAGE, 1986).

O ataque dos fungos manchadores externos comprometem o aspecto visual da madeira, pois há um crescimento acentuado de hifas sobre a superfície, podendo também penetrar profundamente no alburno sem alterar a coloração, pois essas hifas são hialinas (OLIVEIRA et al., 1986).

A madeira atacada por fungos emboloradores apresenta, em sua superfície, área de aspecto pulverulento, constituída de massa de esporos, que pode ser facilmente removida por raspagem. Sua coloração muda de acordo com o fungo, variando entre cinza, verde e amarelo (FURTADO, 2000).

Os fungos causadores de manchas internas nas madeiras formam hifas pigmentadas, que secretam substâncias coloridas. A madeira atacada por estes fungos apresenta, no alburno, áreas de coloração variável, geralmente de coloração azul a cinza escuro, que são observadas em cortes transversais e distribuem-se radialmente. As manchas, que podem ser superficiais ou profundas, depreciam a qualidade e o valor comercial da madeira (OLIVEIRA et al., 1986).

Os fungos de reconhecida capacidade de deterioração que foram utilizados para comparação da deterioração (*Postia placenta*, *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum*) foram os que mais deterioraram as madeiras. Dos fungos utilizados no ensaio, obtidos das cepas deterioradas em isolamento indireto e direto, dois fungos foram capazes de provocar deterioração nas madeiras no ensaio. Provavelmente tratam de fungos pertencentes à Classe dos Basidiomicetos, porem sua identificação ainda não pode ser realizada de maneira precisa por causa da falta de esporos nas colônias isoladas, pois se necessita dos esporos para a identificação de tais fungos.

Em estudo desenvolvido por Modes (2010), com madeira de *Eucalyptus grandis* submetida ao apodrecimento acelerado em laboratório, a

autora observou que a perda de massa da madeira foi de 57,74 e 41,46% para os fungos *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum*, respectivamente, o que corrobora com os valores verificados na presente pesquisa, que variaram de 48,64% (madeira de alburno) e 8,80% (madeira de cerne) para o fungo *Gloeophyllum trabeum* e de 37,45% (madeira de alburno) e 34,88% (madeira de cerne) para o fungo *Trametes versicolor*.

Para o fungo *Postia placenta*, em estudos realizados por Paes et al. (1998) com madeira de alburno de *E. grandis*, foram encontrados valores de 39,26; 42,53 e 41,18% de perda de massa. Nesta pesquisa os valores variaram de 45,93% (alburno) e 34,21% (cerne).

Os fungos normalmente têm maior capacidade de deterioração de madeiras de alburno, uma vez que no cerne, há presença de substâncias de natureza fenólica com propriedades fungicidas e inseticidas, entretanto, os extrativos não se distribuem homogeneamente pelo fuste, tendo sua maior concentração e, conseqüentemente, a maior resistência natural nos lenhos das partes externas do cerne e próximos à base da árvore. No alburno, em razão dos baixos teores de extrativos a resistência natural desse tipo de lenho é menor (OLIVEIRA et al., 1986; OLIVEIRA et al., 2005a; FOREST PRODUCTS LABORATORY, 2010).

Os valores que deram origem a Tabela 2 e Figura 5 foram analisados estatisticamente. A análise de variância dos fatores encontra-se na Tabela 3. Observa-se que houve diferença significativa entre posição, fungos e as interações posição x madeira, posição x fungo, e a interação de segunda ordem. As interações de primeira ordem foram desdobradas e analisadas pelo teste de Tukey a 5% de significância (Tabelas 4 e 5).

Tabela 3 - Análise de variância dos resultados de perda de massa das madeiras submetidas aos fungos testados. Dados transformados em arcsen [raiz(perda de massa/100)]

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrado Médio	F
Posição	1	1,42	183,30	**
Madeira	2	0,04	0,02	ns
Fungo	11	28,21	2,56	**
Posição x Madeira	2	0,13	0,07	**
Posição x Fungo	11	1,97	0,18	**
Madeira x Fungo	22	0,73	0,03	**
Madeira x Posição x Fungo	22	0,43	0,02	**
Resíduo	504	3,89	0,01	
Total	575	36,81		

\*\* significativo a 1%; ns – não significativo a 5% de probabilidade.

De acordo com a Tabela 4, verifica-se que os fungos 1 (*Postia placenta*) e 5 (Basidemiceto 1) deterioraram com maior intensidade as madeiras de *Eucalyptus grandis* e do clone *E. grandis* x *E. urophylla*, proveniente da Fazenda São Sebastião, Córrego do Patrimônio, Distrito de Guaçuí – ES. O fungo 5 atacou menos a madeira proveniente da Fazenda Bananal do Sul, Pacotuba, Distrito de Cachoeiro de Itapemirim – ES, provavelmente este é mais adaptado a microclimas comuns nas Fazendas São Sebastião e Paraíso, localizadas respectivamente em Guaçuí – ES e Espera Feliz – MG, locais de alta altitude ou madeiras de locais mais baixos desenvolveram extrativos que conferiram a estas resistência a tal fungo.

Tabela 4 - Influência na deterioração causada pelos fungos nas madeiras testadas

Fungo	Perda de Massa (%) das Madeiras		
	Madeira 1	Madeira 2	Madeira 3
	<i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>
1 - <i>Postia placenta</i>	40,15 Aa	40,07 Aa	26,81 Bab
2 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,41 Ad	0,15 A d	0,793 Ad
3 - <i>Trametes versicolor</i>	29,52 Bb	36,16 Aa	28,63 Ba
4 - <i>Gloeophyllum trabeum</i>	30,37 Ab	28,74 Ab	26,06 Aa
5 - Basidiomiceto 1	19,91 Ac	17,27 Ac	13,68 Bbc
6 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,90 Ad	0,55 Ad	0,34 Ad
7 - Basidiomiceto 2	12,03 Ac	9,53 Bc	12,93 Ac
8 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,51 Ad	0,74 Ad	1,16 Ad
9 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,39 Ad	0,23 Ad	0,95 Ad
10 - <i>Lasiodiplodia</i> sp.	2,25 Ad	1,27 Ad	0,77 Ad
11 - Basidiomiceto 3	0,69 ABd	0,02 Bd	1,20 Ad
12 - <i>Penicillium</i> sp.	0,56 Ad	2,28 Ad	0,90 Ad

As médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, na horizontal ou minúscula, na vertical, para cada parâmetro não diferem entre si (Tukey;  $p > 0,05$ ).

O fungo 3 atacou com maior intensidade as madeiras dos clones provenientes da Fazenda São Sebastião e Bananal do Sul, e em menor intensidade a madeira de *E. grandis*.

O fungo 11 atacou com menor intensidade a madeira proveniente da Fazenda Paraíso e com maior magnitude a madeira coletada na Fazenda Bananal do Sul. A madeira da Fazenda São Sebastião apresentou resistência intermediária a esse fungo. Os demais fungos atacaram com a mesma intensidade todas as madeiras testadas.

Os fungos que apresentaram maior capacidade de deterioração foram o *P. placenta*, *G. trabeum* e *T. versicolor* para as madeiras testadas. Dentre os fungos isolados, aqueles que causaram degradação mais próxima dos fungos

citados foram os fungos 5 e 7 (Basidiomicetos 1 e 2), isolados de cepas de eucaliptos provenientes da Fazendas São Sebastião e Bananal do Sul, respectivamente. Como os fungos 1, 3 e 4 são de reconhecida capacidade de deterioração, sendo recomendados pela ASTM D-2017 (2005b) para avaliação da resistência natural de madeiras, os isolados (Basidiomicetos 1 e 2) apresentam perspectiva para serem utilizados em estudos de campo para deterioração de cepas de *Eucalyptus* spp.

Os demais isolados apresentaram pequena capacidade de deterioração. Provavelmente isso ocorreu em função desses fungos serem os primeiros a colonizarem a madeira e se alimentarem basicamente de substâncias de reserva (amidos e açúcares) existentes no tecido parenquimático, não apresentando capacidade de deteriorar os componentes principais da madeira (celulose, hemiceluloses e lignina), por não produzirem enzimas com capacidade de atuação extracelular, para provocarem a quebra dos componentes principais da madeira (RAYNER; BODDY, 1995; SCHMIDT, 2006).

Na Tabela 5 constam as influências da posição (alburno e cerne) e dos fungos para as madeiras estudadas. Observa-se que para todas as madeiras, os fungos apresentaram maior capacidade de deterioração do alburno. Isto é o que normalmente ocorre, uma vez que os fungos consomem inicialmente a madeira de alburno das cepas e, posteriormente, após a perda de alguns extrativos do cerne ocasionada por evaporação, lixiviação e reações ocasionadas pelo ambiente, os fungos iniciam seu ataque ao cerne.

A madeira proveniente da Fazenda São Sebastião, independente da posição (alburno e cerne) foi a mais consumida pelos fungos testados. Os fungos 1, 3, 4, 5, e 7 atacaram mais intensamente a madeira de alburno dos eucaliptos testados. Os demais fungos empregados em função de suas baixas capacidades de deterioração pouco consumiram as madeiras de cerne e alburno.

Tabela 5 - Influência da posição e dos fungos na decomposição das madeiras testadas

Madeiras	Perda de Massa (%) das Madeiras	
	Posições na Madeira	
	Alburno	Cerne
1 - <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	15,80 Aa	7,07 Ba
2 - <i>E. grandis</i>	14,70 Ab	7,51 Bb
3 - <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	12,15 Ab	7,57 Bb
Fungos	Perda de Massa (%) das Madeiras	
	Posições na Madeira	
	Alburno	Cerne
1 - <i>Postia placenta</i>	41,85 Aa	29,43 Ba
2 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,46 Ad	0,44 Ad
3 - <i>Trametes versicolor</i>	36,01 Aa	26,87 Ba
4 - <i>Gloeophyllum trabeum</i>	42,00 Aa	14,78 Bb
5 - Basidiomiceto 1	28,43 Ab	5,48 Bc
6 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,79 Ad	0,40 Ad
7 - Basidiomiceto 2	15,91 Ac	7,09 Bc
8 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,89 Ad	0,72 Ad
9 - <i>Trichoderma</i> sp.	0,76 Ad	0,28 Ad
10 - <i>Lasiodiplodia</i> sp.	2,02 Ad	0,84 Ad
11 - Basidiomiceto 3	0,77 Ad	0,50 Ad
12 - <i>Penicillium</i> sp.	1,77 Ad	0,76 Ad

As médias seguidas por uma mesma letra maiúscula, na horizontal ou minúscula, na vertical, para cada parâmetro não diferem entre si (Tukey;  $p > 0,05$ ).

A exemplo do observado na Tabela 4, os fungos 1, 3, 4, 5 e 7 foram aqueles que apresentaram maior capacidade de deterioração do alburno (Tabela 5). Para a madeira de cerne, os fungos 1 e 3 apresentaram maior capacidade de deterioração, seguido do fungo 4. Dentre os fungos isolados das

cepas, como já observado anteriormente (Tabela 4), os fungos 7 e 5 apresentaram maior capacidade de deterioração da madeira de cerne. A deterioração causada pelo fungo 7, correspondeu a aproximadamente 50% da capacidade de deterioração do fungo 4 e aproximadamente 25% da capacidade dos fungos 1 e 3, sendo por tanto de interesse em trabalhos futuros.

Com o intuito de conhecer qual dos constituintes da madeira foi mais deteriorado pelos fungos isolados que apresentaram maior capacidade de deterioração, realizou-se a caracterização química das madeiras utilizadas no ensaio (Tabela 6).

Para os clones testados, de modo geral, houve incremento no teor de extrativos totais na madeira deteriorada (cerne e alburno), para ambos Basidiomicetos testados. Isto ocorreu provavelmente por que os fungos causaram quebra nos constituintes da parede celular (celulose, hemiceluloses e lignina), tornando-os mais solúvel aos reagentes empregados (álcool: tolueno).

Para as madeiras de cerne de *E. grandis* houve decréscimo no teor de extrativos para ambos Basidiomicetos. Provavelmente, houve consumo de parte dos extrativos desta madeira pelos fungos.

Para holocelulose (celulose + hemiceluloses), ocorreram pequenas diferenças entre as madeiras sadias e deterioradas (variações médias em torno de 1%). Isto indica que os Basidiomicetos isolados, podem ser classificados como fungos causadores da podridão branca na madeira, por causarem pouco ataque a holocelulose. Tais isolados poderiam ser utilizados em processo de biopolpação (COSTA, 1993).

Com relação à lignina, o Basidiomiceto 2 causou maior degradação quando comparado ao Basidiomiceto 1. A degradação foi maior no alburno que no cerne. Segundo Costa (1993) este poderia vir a ser um fungo de utilização em processos de biopolpação.

Provavelmente, esse fungo seria capaz de atacar madeiras de cerne, uma vez que a mesma iria perder extrativos voláteis pela exposição às intempéries, tornando a madeira menos resistente a fungos deterioradores.

Tabela 6. Caracterização química das madeiras sadias e deterioradas pelos Basidiomicetos isolados

Madeira Não-Deteriorada							
Madeira	Posições na Madeira	Extrativos (%) (Álcool:Tolueno)		Holocelulose (%)		Lignina Total (%)	
1 - <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	Alburno	0,95		68,85		30,20	
	Cerne	2,05		66,61		31,34	
2 - <i>E. grandis</i>	Alburno	1,29		70,09		28,62	
	Cerne	4,13		65,46		30,42	
3 - <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	Alburno	1,76		67,10		31,14	
	Cerne	1,58		67,28		31,14	
Madeira Deteriorada							
Madeira	Posições na Madeira	Extrativos (%) (Álcool:Tolueno)		Holocelulose (%)		Lignina Total (%)	
		Basidiomicetos					
		1	2	1	2	1	2
1 - <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	Alburno	3,09	3,19	68,96	70,65	27,95	26,17
	Cerne	1,69	2,53	67,64	66,64	30,67	30,83
2 - <i>E. grandis</i>	Alburno	2,89	4,11	69,05	71,10	28,07	24,79
	Cerne	2,42	2,68	66,59	66,69	30,99	30,63
3 - <i>E. grandis</i> x <i>E. urophylla</i>	Alburno	2,53	3,65	66,57	67,75	30,90	28,60
	Cerne	2,37	3,23	66,44	66,72	31,19	30,06

#### **4. CONCLUSÕES**

Dentre os fungos isolados, os possíveis Basidiomicetos foram capazes de causar maior deterioração em amostras de madeiras provenientes de cerne e alburno de eucaliptos testados.

A madeira proveniente do alburno foi mais deteriorada que a do cerne para os Basidiomicetos testados.

Dos Basidiomicetos isolados das cepas, o Basidiomiceto 1 e 2 foram os que mais deterioraram a madeira de cerne, sendo por tanto de interesse em trabalhos futuros.

Os possíveis Basidiomicetos isolados de modo geral causaram incremento no teor de extrativos na madeira deteriorada.

Para os polissacarídeos da madeira (holocelulose + hemicelulose), os fungos isolados (Basidiomiceto 1 e 2) provocaram pequeno consumo dos polissacarídeos entre as madeiras sadias e deterioradas (variações médias em torno de 1%).

Para a lignina, o Basidiomiceto 2 causou degradação maior que a causada pelo Basidiomiceto 1.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, **ASTM D - 1413**: standard test method for wood preservatives by laboratory soil-block cultures. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, 2005a, 7p.

\_\_\_\_\_, **ASTM D – 2017**: standard test method for accelerated laboratory test of natural decay resistance of wood. Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia, 2005b, 5p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DA MADEIRA PROCESSADA MECANICAMENTE - ABIMCI. **Setor de processamento mecânico da madeira do Estado do Paraná**. Curitiba, 2004a, 36p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA TÉCNICA DE CELULOSE E PAPEL-ABTCP. **Normas técnicas ABCP**. São Paulo: ABTCP, 1974. 18p.

CAVALCANTE, M. S. **Deterioração biológica e preservação de madeiras**, São Paulo: IPT, 1982. 40 p. (Pesquisa e Desenvolvimento, 8).

COSTA, A. S. **Pré tratamento biológico de cavaco industriais de eucalipto para produção de celulose Kraft**. 1993, 115f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1993.

FERREIRA, G. C.; GOMES, J. I.; HOPKINS, M. J. G. Estudo anatômico das espécies de Leguminosae comercializadas no Estado do Pará como “angelim”. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 3, p. 387-398, 2004.

FOREST PRODUCTS LABORATORY – FPL. **Wood handbook**: wood as an engineering material. Madison: USDA/FS/FPL, 2010, 463p. (General Technical Report , FPL/GTR,113).

FURTADO, E. L. Microorganismos manchadores da madeira. In: SIMPÓSIO DO CONE SUL SOBRE MANEJO DE PRAGAS E DOENÇAS DE *Pinus*, 1., 2000, Piracicaba, **Série Técnica IPEF**, Piracicaba, v. 13, n. 33, p . 91– 96, 2000.

GOMIDE, J.L.; DEMUNER, B.J. Determinação do teor de lignina em material lenhoso: método Klason modificado. **O Papel**, São Paulo, v.47, n.8, p. 36-38, 1986.

HUNT. M. G.; GARRAT. G. A. **Wood preservation**, New York: Mc Graw-Hill, 1963. 433p.

LEPAGE, E.S. Química da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT, 1986. v. 1, p. 69-97.

MODES, K. S. **Efeito da retificação térmica nas propriedades físico-mecânicas e biológica das madeiras de *Pinus taeda* e *Eucalyptus grandis***. 2010. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

OLIVEIRA, J. T. S. et al. Influência dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 819-826, 2005a.

OLIVEIRA, J. T. S.; TOMAZELLO, M.; SILVA, J. C. Resistência natural da madeira de sete espécies de eucalipto ao apodrecimento. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 993-998, 2005b.

OLIVEIRA, A. M. F. et al. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E. S. (Coord.). **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT, 1986. v.1, p.99-278.

PAES, J. B. et al. Eficiência da purificação e do enriquecimento do creosoto vegetal contra fungos xilófagos em testes de laboratório. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 263-269, 1998.

PAES, J. B. Resistência natural da madeira de *Corymbia maculata* (Hook.) K. D. Hill e L.A.S. Johnson a fungos e cupins xilófagos, em condições de laboratório. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 761-767, 2002.

PAES, J. B. et al. Resistência natural de nove madeiras do semi-árido brasileiro a fungos xilófagos em condições de laboratório. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 275-282, 2004.

RAYNER, A. D. M.; BODDY, L. **Fungal decomposition of wood: its biology and ecology**. Chichester: John Wiley & Sons, 1995. 587p.

ROCHA, M. P. **Biodegradação e preservação da madeira**. 5. ed. Curitiba: Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, 2001. 94p. (Série Didática 01/01).

SANTOS, Z. M. **Avaliação da durabilidade natural da madeira de *Eucalyptus grandis* W, Hill: Maiden em ensaios de laboratório**, 1992. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.

SCHMIDT, O. **Wood and tree fungi: biology, damage, protection, and use**. Berlin: Springer, 2006. 334p.

SGAI, R. D. **Fatores que afetam o tratamento para preservação de madeiras**, 2000. 122f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

SILVA, J. C. et al. Influência da idade e da posição radial na flexão estática da madeira de *Eucalyptus grandis* Hill ex, Maiden, **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n.5, p. 795-799, 2005.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistic: a biometrical approach**. 2.ed. New York: Mc Graw Hill, 1980. 633 p.