



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL

**POTENCIAL DE DETERIORAÇÃO DE FUNGOS
APODRECEDORES DE MADEIRA EM ENSAIOS DE
LABORATÓRIO**

Orientanda: Lissyanne Fleury de Mello Santos

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Florian da Costa

Co Orientador: Dr. Fernando Nunes Gouveia – LPF/SFB

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Engenharia Florestal da Universidade de
Brasília, como parte das exigências para
obtenção do título de Engenharia Florestal

Brasília – DF
Dezembro de 2015

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL

**POTENCIAL DE DETERIORAÇÃO DE FUNGOS
APODRECEDORES DE MADEIRA EM ENSAIOS DE
LABORATÓRIO**

Orientanda: Lissyanne Fleury de Mello Santos

Mat.: 10/0111131

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Florian da Costa

Coorientador: Dr. Fernando Nunes Gouveia – LPF/SFB

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Engenharia Florestal da Universidade de
Brasília, como parte das exigências para
obtenção do título de Engenharia Florestal

Brasília - DF
Dezembro de 2015



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL

**POTENCIAL DE DETERIORAÇÃO DE FUNGOS APODRECEDORES DE
MADEIRA EM ENSAIOS DE LABORATÓRIO**

Estudante: Lissyanne Fleury de Mello Santos

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Florian da Costa

Menção: SS

Prof. Dr. Alexandre Florian da Costa
Universidade de Brasília – UnB
Departamento de Engenharia Florestal
Orientador

Dr. Fernando Nunes Gouveia
Laboratório de Produtos Forestais - LPF
Serviço Florestal Brasileiro - SFB
Coorientador

M. Sc. Alessandro César de Oliveira Moreira
Laboratório de Produtos Forestais - LPF
Serviço Florestal Brasileiro - SFB
Membro da Banca

Brasília – DF, Dezembro de 2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar presente em minha vida em todos os momentos, me direcionando até aqui, colocando no meu caminho pessoas especiais e importantes para a execução deste trabalho.

Ao orientador, Professor Dr. Alexandre Florian da Costa pelos ensinamentos acadêmicos, pela sua orientação segura e competente no auxílio da construção deste trabalho, pela gentileza e atenção, estando presente e disponível durante minha graduação.

Ao coorientador Dr. Fernando Nunes Gouveia pelos conselhos, supervisão e auxílio durante o desenvolvimento deste projeto.

Ao M. Sc. Alessandro César Moreira pelo auxílio, supervisão e paciência durante a execução desse trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Produtos Florestais do Serviço Florestal Brasileiro, Débora, Fernando, Getúlio, Marcelo e Sophia, pelo grande auxílio durante a execução deste projeto. E em especial, ao Lopes, pela supervisão e orientação durante a execução do trabalho.

Aos meus pais, Waldenir e Dorilene, meus maiores exemplos, pelo amor, carinho e apoio incondicional em todos os momentos da minha vida e por estarem sempre presentes na partilha de minhas conquistas e frustrações.

Ao meu amor e amigo, Erick, pelo apoio e palavras de conforto, pelo carinho e paciência durante a elaboração deste projeto.

À Universidade de Brasília, ao Departamento de Engenharia Florestal e a todos os meus professores por contribuírem com minha formação acadêmica e meu crescimento intelectual.

Nesta hora de encerramento de uma etapa muito especial, em que a alegria por estar terminando se junta ao cansaço, é difícil lembrar de todos os que participaram comigo desta jornada, mas de uma maneira muito sincera, agradeço a todos que, de uma forma ou de outra, colaboraram para a realização desta monografia.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

POTENCIAL DE DETERIORAÇÃO DE FUNGOS APODRECEDORES DE MADEIRA EM ENSAIOS DE LABORATÓRIO

O presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial de ataque fúngico de treze espécies de fungos apodrecedores de madeiras divididos entre as classes de podridão branca, parda e mole, na espécie de madeira *Castilla ulei*, através de ensaio acelerado de laboratório. A determinação da resistência das amostras foi realizada por meio da perda de massa, de acordo com a norma ASTM D-2017, além das informações da composição química da madeira após o ataque fúngico, como teores de extrativos, lignina ácida solúvel, lignina acida insolúvel e cinzas livres extrativos, conforme suas respectivas normas TAPPI – 204 om 88, NREL LAP -004, NREL LAP – 003, TAPPI – 211 om 93. Para os valores de perda de massa o *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, e o *Gloeophyllum trabeum* não apresentaram diferença estatística, ao nível de significância de 5%. Para a análise de todas as variáveis mensuradas foram empregados dois métodos de análise de dados, Análise por Agrupamento Hierárquico – HCA e Análise de Componentes Principais – PCA, para discriminação das diferentes categorias de fungos xilófagos. Os resultados obtidos diferenciaram quatro grupos, um formado por três fungos de podridão branca (*Trametes versicolor*, *Ganoderma applanatum* e *Pycnoporus sanguineus*) e outro formado por fungos de podridão parda (*Gloeophyllum trabeum*, *Gloeophyllum striatum* e *Meruliporia incrassata*), os demais grupos apresentaram mais de uma categoria de fungos.

Palavras-chave: Ensaio Acelerado em Laboratório, Fungos Apodrecedores, Análise por Agrupamento Hierárquico – HCA, Análise de Componentes Principais – PCA, Potencial de Deterioração, *Castilla ulei*.

ABSTRACT

POTENTIAL DECAY OF WOOD DECAYING FUNGI IN ACCELERATED TESTING LABORATORY

This study evaluated the potential of fungal attack of thirteen wood decay fungi divided between white rot, brown rot and soft rot classes, against *Castilla ulei* wood specie through accelerated laboratory test. The resistance of the wood samples was done by weight loss, according to ASTM D-2017 standards, as well as chemical composition information after the fungal attack, like content of extractives, acid soluble lignin, acid insoluble lignin and extractives free ash, according to their respective standards TAPPI standards - 204 om 88, NREL LAP -004, NREL LAP - 003, TAPPI - 211 om 93. For the weight loss values *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* and *Gloeophyllum trabeum* showed no statistical difference at the level of significance of 5%. The analysis of all the variables measured was done employing two methods of exploratory data Principal Component Analysis – PCA and Hierarchical Grouping Analysis-HCA, for discrimination between different categories of wood-destroying fungi. The results showed four different groups, one of three white rot fungi (*Trametes versicolor*, *Ganoderma applanatum* and *Pycnoporus sanguineus*), another formed by brown rot fungi (*Gloeophyllum trabeum*, *Gloeophyllum striatum* and *Meruliporia incrassata*), the other two groups were formed by more than one class of fungi.

Key words: Accelerated Testing Laboratory, Decay Fungi, Hierarchical Grouping Analysis - HCA, Principal Component Analysis – PCA, Decay Potential, *Castilla ulei*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE SIGLAS.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVO.....	14
2.1. Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1. Biodeterioração de madeira.....	15
3.1.1. Podridão parda.....	16
3.1.2. Podridão branca.....	16
3.2. Resistência da Madeira.....	17
3.3. Constituição Química.....	17
3.3.1. Celulose.....	18
3.3.2. Polioses.....	18
3.3.3. Lignina.....	19
3.4. Análise Química da Madeira.....	19
3.5. Espécie de Madeira.....	19
3.5.1. <i>Castilla ulei</i> Warb.....	19
3.6. Análise Estatística Multivariada.....	20
3.6.1. Análise por Agrupamento Hierárquico – HCA.....	20
3.6.2. Análise do Componente Principal – PCA.....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1. Fungos Xilófagos.....	22
4.2. Corpos de Prova e Tratamentos.....	22
4.3. Ensaio Acelerado de Ataque dos Fungos.....	24
4.3.1. Preparo do substrato.....	24
4.3.2. Placa suporte.....	25
4.3.3. Repicagem dos fungos.....	25
4.3.4. Inoculação e incubação dos fungos.....	25
4.3.6. Retirada dos corpos de prova.....	26
4.3.7. Perda de massa.....	26
4.4. Análise Química.....	27
4.4.1. Preparação das amostras.....	28

4.4.2.	Teor de Umidade	28
4.4.3.	Teor de extrativos	29
4.4.4.	Teor de Lignina	30
4.4.5.	Teor de Cinzas	32
4.4.6.	Teor de Holocelulose.....	32
4.5.	Análise dos Resultados	33
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6.	CONCLUSÕES	42
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Corpos de prova dispostos em bandeja de alumínio prontos para climatização em estufa (a); corpos de prova embalados em papel alumínio e levados a autoclave (b, c).	24
Figura 2 - Corpo de prova sobre a placa suporte, inoculada com o fungo <i>Gloeophyllum striatum</i>	26
Figura 3 - Limpeza para a remoção do micélio do fungo aderido ao corpo de prova, e os utensílios utilizados (a,b).....	26
Figura 4 - Moinho do tipo Wiley utilizado para reduzir os corpos de prova (a) e peneiras para classificação granulométrica utilizada para separar as partículas entre 40 e 60 mesh (b).....	28
Figura 5 - Extratores do tipo <i>soxhlet</i> com tolueno:etanol (a); e equipamento para realização de banho-maria, para limpeza com água (b).	29
Figura 6 - Adição da solução de ácido sulfúrico 72% nos tubos de ensaio com aproximadamente 0,3g de amostra cada (a); tubos de ensaios submetidos ao <i>banho-maria</i> sob temperatura de. 30 ± 1 °C.	30
Figura 7 - Cadinho filtrante de porosidade fina com material lignocelulósico insolúvel, prontos para serem levados a estufa	31
Figura 8 - Espectrofotômetro UV calibrado com absorvância de 205 mm utilizado na obtenção da lignina ácida solúvel.	31
Figura 9 - Forno mufla utilizado para a calcinação, e os cadinhos em seu interior esperando resfriamento (a); cinzas obtidas após o processo dentro dos cadinhos de porcelana (b).....	32
Figura 10 - Perda de massa das espécies de madeira controle com a espécie <i>Castilla ulei</i>	36
Figura 11 - Dendrograma dos dados auto escalados e segregados de acordo com a classe de podridão dos fungos analisados.	39
Figura 12 - Gráfico de <i>scores</i> entre a PC1 e PC2, com variação total de 76,3%. Segregando as três categorias de fungos, podridão branca, em verde, parda, em cinza, e mole, em roxo.....	40
Figura 13 - Gráfico de <i>scores</i> entre a PC1 e PC2, com variação total de 76,3%. Segregando os quatro grupos encontrados pelo HCA.	40
Figura 14 - Gráfico de <i>loadings</i> (peso) das variáveis entre o PC1 e o PC2. PM (%): perda de massa; EXT (%): teor de extrativos; LI (%): teor de lignina ácida insolúvel; LS (%): teor de lignina ácida solúvel; C525 (%): teor de cinzas à 525°C.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação dos fungos da coleção do LPF que foram utilizados nesse estudo.	22
Tabela 2 - Tratamentos utilizados no experimento distribuídos por classe de fungos, espécies de madeira, e respectivo número de corpos de prova.	23
Tabela 3 - Classificação da resistência da madeira, em função de sua perda de massa.	27
Tabela 4 - Análises químicas realizadas e as respectivas normas seguidas.	27
Tabela 5 - Percentual médio de perda de massa e a classificação das madeiras nas classes de resistência usadas como controle.	34
Tabela 6 - Percentual médio de perda de massa e a classificação da <i>Castilla ulei</i> nas classes de resistência.	35
Tabela 7 - Análise de variância para perda de massa da espécie <i>Castilla ulei</i> submetida ao apodrecimento acelerado por treze fungos.	36
Tabela 8 - Média de perda de massa dos treze fungos apodrecedores para a espécie <i>Castilla ulei</i>	37
Tabela 9 - Análise química da madeira de <i>Castilla ulei</i> após o ataque dos treze fungos apodrecedores.	38

LISTA DE SIGLAS

ASTM	American Society for Testing and Materials
EN	European Normalization
FAL	Fazenda Água Limpa
HCA	Análise por Agrupamento Hierárquico
LPF	Laboratório de Produtos Florestais
NREL	National Renewable Energy Laboratory
PCA	Análise de Componentes Principais
pb	Podridão branca
pm	Podridão mole
pp	Podridão parda
SFB	Serviço Florestal Brasileiro
TAPPI	Technical Association of the Pulp and Paper Industry
UnB	Universidade de Brasília

1. INTRODUÇÃO

A resistência natural da madeira à deterioração tem sido entendida como a capacidade, intrínseca de uma determinada espécie, de resistir à ação de agentes deterioradores, nos quais estão incluídos tanto agentes biológicos como físicos e químicos. Essa propriedade biológica apresenta grande variabilidade em razão dos diferentes arranjos anatômicos e de composição química da madeira, os quais conferem distintas classes de durabilidade entre as espécies, dentro de uma mesma espécie e até mesmo, dentro do mesmo indivíduo arbóreo (FINDLAY, 1985; LELLES & REZENDE, 1986; PAES, 2002).

De maneira geral, a resistência natural de madeiras tem sido relacionada à ação de agentes biológicos, mais especificamente aos fungos xilófagos da classe dos basidiomicetos. A ação desses fungos tem sido avaliada através do comportamento da madeira exposta ao ataque desses microrganismos em ensaios de apodrecimento acelerado em laboratório. Os métodos desenvolvidos e utilizados nesses ensaios utilizam fungos comumente conhecidos como causadores de podridão parda e de podridão branca, sendo que os causadores de podridão mole têm sido menos utilizados por terem sido os últimos descobertos dentro dessa classe de fungos apodrecedores de madeira (IPT, 1986).

Além disso, tem sido observado que uma mesma espécie de madeira pode apresentar diferentes níveis de resistência dependendo da espécie de fungo considerada. Devido a esse fato é recomendado que os ensaios sejam conduzidos com espécies de fungos de classes distintas e que sejam de importância econômica para a região de utilização da madeira, devendo ser considerado também seu comportamento em condições de laboratório e em condições naturais de campo (COSTA *et al.*, 2011).

Os ensaios em laboratório consistem na exposição de corpos de prova, obtidos da espécie em estudo, às culturas puras de fungos desenvolvidas em meio de cultura apropriado. A exposição é feita durante certo período de tempo, após o qual é determinada a perda percentual de massa provocada pela ação dos fungos nessas amostras de madeira. Estes valores são comparados com valores tabelados que relacionam as perdas de massa observadas com as classes de resistência estabelecidas subjetivamente, a partir de estudos de algumas espécies de madeira e com base na experiência empírica (STANGERLIN *et al.*, 2013).

Em geral, esses ensaios são realizados de acordo com as normas ASTM D 2017 (American Society for Testing and Materials) ou EN 113 (European Normalization), desenvolvidos para

espécies de madeiras e fungos de clima temperado. Desse modo, é de extrema relevância a aplicação de normas como essas, utilizando madeiras brasileiras e fungos existentes no território nacional, visando compreender os diferentes potenciais de ataque fúngico e suas respectivas perdas de massa, sobre uma mesma espécie de madeira submetida a diferentes espécies de fungos apodrecedores.

A madeira sob ataque de fungos, apresenta alterações na sua composição química, além de diminuição de massa, modificação da cor natural, redução da resistência mecânica, aumento da permeabilidade, entre outros efeitos (SANTOS, 1992).

2. OBJETIVO

O presente estudo tem por objetivo avaliar o potencial de deterioração de treze espécies de fungos apodrecedores de madeiras divididos entre as classes de podridão branca, parda e mole, em uma espécie de madeira através de ensaio acelerado de laboratório.

2.1. Objetivos Específicos

- Classificar a resistência natural da *Castilla ulei*, frente ao ataque de treze espécies de fungos apodrecedores de acordo com a norma ASTM D 2017-05.
- Analisar os teores dos principais componentes químicos da madeira antes e após a deterioração causada pelos fungos.
- Avaliar quais os fungos que apresentaram maior potencial de deterioração, em termos de perda de massa, frente às mesmas condições.
- Sugerir fungos que estatisticamente obtiveram desempenho semelhante, quanto às variáveis analisadas, aos fungos comumente utilizados, *Trametes versicolor* e *Gloeophyllum trabeum*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biodeterioração de madeira

Santini (1988) define biodeterioração como as alterações indesejáveis provocadas nas propriedades da madeira por organismos vivos. Esses organismos são atraídos pelos componentes da madeira e os utilizam diretamente ou indiretamente como fonte de energia, e esse processo que provoca a deterioração dos componentes da madeira. Os principais agentes biológicos que utilizam a madeira dessa maneira são os fungos, cupins e as brocas marinhas (BRAZOLIN, 2007).

Dentre esses agentes biológicos, segundo Moreschi (2005), os fungos são os responsáveis pela maior proporção de danos, já que seus ataques apresentam elevada frequência na madeira. Além disso, as propriedades de resistência da madeira são severamente prejudicadas por estes organismos (MORAIS *et al.*, 2005).

O fenômeno de biodeterioração da madeira ocorre em etapas ou estágios graduais e contínuos, de acordo com o tipo de microorganismo em desenvolvimento na madeira. De modo geral, pode-se dividir o fenômeno de biodeterioração, causado por fungos, em quatro estágios, segundo Zabel & Morrell, (1992):

- I. O primeiro estágio, denominado incipiente, ocorre a partir do momento em que se dá a penetração superficial da madeira pelo microorganismo, resultando na liberação de enzimas que agem na colonização. Nesse primeiro momento, não há evidências macroscópicas que indiquem o ataque da madeira.
- II. Aos primeiros sinais visuais de ataque de microorganismos, classifica-se esta etapa de recente.
- III. A etapa seguinte, denominada de intermediária, é caracterizada pela alteração evidente na coloração e textura da madeira, entretanto, a estrutura permanece inalterada.
- IV. No último estágio, denominado de avançado, ocorre a total destruição da estrutura da madeira.

Para Texeira *et al.* (1997), todas as madeiras podem tornarem-se susceptíveis ao ataque de organismos xilófagos caso estejam sob condições favoráveis de umidade, temperatura e pH. Moreschi (1980) explica que para o desenvolvimento de fungos em madeiras são necessárias algumas condições, sendo que a ausência destas condições limita este processo, são elas a disponibilidade de oxigênio, geralmente acima de 20%; o pH na faixa ácida (4,5 a 5,5); a temperatura entre 25 e 30°C e, particularmente, o teor de umidade da madeira superior a 20%.

Quanto aos teores de umidade, segundo Kollmann & Côte Junior (1968), em média, entre 35 e 50% parecem ser favoráveis ao crescimento de fungos na madeira. Os mesmos autores explicam que em tal condição as paredes celulares encontram-se saturadas com água, apresentando uma camada de água livre revestindo os lumens das células. O restante da cavidade celular é então disponível para troca de gases enquanto a camada líquida facilita a difusão de enzimas da hifa dentro da parede celular. De um modo geral, as madeiras completamente saturadas de água ou com umidade abaixo do ponto de saturação das fibras dificultam ou até inviabilizam o ataque por fungos apodrecedores.

De acordo com suas preferências alimentares, os fungos apodrecedores podem ser divididos em três grupos: podridão parda, branca e mole. Entre estes, destaca-se a classe dos basidiomicetos, na qual se encontram os fungos responsáveis pelas podridões parda e branca utilizados neste estudo.

3.1.1. Podridão parda

Os fungos de podridão parda, pertencentes à classe dos Basidiomicetos, têm preferência pela deterioração da celulose e hemicelulose, permitindo que a lignina, de coloração escura, permaneça intacta (MENDES & ALVES, 1988). Este fenômeno, segundo Moreschi (2005), proporciona à madeira atacada um aspecto de estar levemente queimada, assumindo, desta forma, uma coloração pardacenta.

Quando em estágios avançados do ataque, podem ser observados na madeira seca, além da alteração da coloração, citados anteriormente, fissuras paralelas e perpendiculares às fibras da madeira que adquire, além disso, uma consistência quebradiça e friável. (LELIS *et al.*, 2001).

Seabright (1995) cita que a perda de massa total das madeiras susceptíveis ao apodrecimento pode chegar a 65% com a podridão-parda.

Os fungos de podridão parda apresentam certa preferência para deteriorarem madeiras de coníferas (BLANCHETTE, 1983; FENGEL & WEGENER, 1984; HIGHLEY *et al.*, 1985 e GREEN & HIGHLEY, 1997).

3.1.2. Podridão branca

Mendes e Alves (1988) e Silva (2007) explicam que a podridão branca é um processo biológico resultante da ação enzimática do micélio dos fungos xilófagos, pertencentes aos basidiomicetos, sobre as paredes celulares deteriorando sem distinção os polissacarídeos e a lignina. A ação restrita do sistema enzimático proporciona a formação de fendas ou orifícios nos quais os fungos se assentam. No decorrer do ataque estas fendas vão se agrupando,

provocando uma total erosão da parede celular a partir do lume (MENDES & ALVES, 1988). Lelis *et al.* (2001), completam que a madeira atinge uma consistência esponjosa e, por vezes, linhas escuras demarcam a área atacada.

A madeira atacada com o fungo da podridão branca apresenta, também, uma tendência de perder seu aspecto lustroso e sua coloração natural, tornando-se esbranquiçada como resultado da destruição de sua pigmentação (SANTINI, 1988).

De acordo com Curling *et al.* (2000), em geral, esses fungos deterioram em maior grau madeiras de folhosas em comparação com coníferas.

3.2. Resistência da Madeira

Em seu amplo sentido, a resistência da madeira à deterioração é a capacidade inerente à espécie de resistir à ação de agentes deterioradores, incluindo os agentes biológicos, físicos e químicos. No entanto, em virtude da frequência e da importância econômica, a resistência natural é normalmente entendida como referente aos agentes biológicos (WILLEITNER, 1984).

A resistência, intrínseca a madeira, à biodeterioração é atribuída à presença de certas substâncias no lenho, como taninos e outras substâncias fenólicas complexas, tóxicas a fungos e a insetos xilófagos (FINDLAY, 1985; LELLES & REZENDE, 1986, PAES, 2002). Eaton & Hale (1993) afirmam que a durabilidade da madeira depende das vias de acesso para os organismos se fixarem e sua composição química. O acesso à penetração de fungos depende da natureza, distribuição e tamanho dos elementos celulares ou anatômicos da madeira, sendo os elementos axiais o principal meio, posteriormente os elementos radiais e tangenciais. Além desses elementos, há as barreiras naturais à penetração dos fungos, como as tiloses, pontuações, gomas e resinas. Os principais fatores químicos que influenciam a durabilidade natural da madeira são os próprios polímeros da parede celular e os extrativos presentes.

Segundo Oliveira *et al.* (2005), as madeiras que apresentam elevada durabilidade natural podem ser destacadas, e denominadas como de alto grau de nobreza, conferindo-lhes um amplo espectro de utilização e, conseqüentemente, tornando-as mais valorizadas no mercado.

3.3. Constituição Química

A presença de componentes fundamentais e complementares caracteriza a composição química da madeira. Os componentes considerados fundamentais são a lignina, a celulose e a hemicelulose (polioses), sendo que a conjunto desses dois últimos compõem o conteúdo total de polissacarídeos da madeira, denominado de holocelulose.

Já os extrativos são enquadrados como componentes complementares, não fazem parte da estrutura da parede celular, eles são óleos essenciais, resinas, taninos, graxas e pigmentos (MORAIS *et al.*, 2005; SILVA, 2002). Esses compostos secundários possuem baixa massa molecular e se apresentam na madeira em pequena quantidade (MORAIS *et al.*, 2005).

3.3.1. Celulose

A celulose constitui entre 40 a 50% da maioria das plantas, se concentrando, principalmente, na parede secundária das células vegetais. Ela é um polissacarídeo que se apresenta como um polímero de cadeia linear, com tendência a formar pontes de hidrogênio inter e intramoleculares. O comprimento deste polissacarídeo possibilita que ele seja insolúvel em solventes orgânicos à temperatura ambiente, formado por unidades de β -D-anidroglicopiranosose ligadas entre si através dos carbonos 1-4 formando uma estrutura parcialmente cristalina (KLOCK *et al.*, 2005).

As moléculas de celulose se agregam alternando regiões cristalinas com amorfas na forma de microfibrilas, e posteriormente fibras celulósicas. Essas fibras são formadas por moléculas de celulose de diversos tamanhos. Essa estrutura confere a celulose alta resistência à tração (COSTA, 2009).

A degradação biológica da celulose ocorre devido a uma hidrólise enzimática catalisada pela celulase. Trata-se de um ataque localizado em virtude das moléculas da enzima serem grandes e não poderem se difundir prontamente na celulose. Essa mesma característica permite que apesar da perda de resistência da celulose, ao longo da degradação, esta não é acompanhada por uma grande perda de massa e pela diminuição de polimerização da celulose (KLOCK *et al.*, 2005).

3.3.2. Polioses

Esse termo faz referência a mistura de polímeros de polissacarídeos de baixa massa molecular, ou seja, não define um composto químico específico, mas uma classe de componentes poliméricos, sendo que cada componente possui propriedades peculiares. Em sua composição podem ocorrer em proporções variadas de xilose, manose, glucose, arabinose, galactose, ácido galactourônico, ácido glucorônico e ácido metilglucourônico (KLOCK *et al.*, 2005). O teor e a proporção dos componentes das polioses na madeira variam entre as espécies, provavelmente, entre árvores também (PHILIPP & D'ALMEIDA, 1998 *apud* MORAIS *et al.*, 2005).

Devido a algumas características essenciais das polioses, como a ausência de cristalinidade, baixa massa molecular e sua configuração irregular e ramificada, elas absorvem água com facilidade. Esta absorção contribui para o intumescimento, a mobilidade interna e o aumento de flexibilidade das fibras, aumento da área específica e a ligação das fibras. (KLOCK *et al.*, 2005)

3.3.3. Lignina

A composição da lignina se dá por diversos polissacarídeos, constituídos por um sistema aromático composto de unidades de fenil-propano e diferentes teores de grupos alcóolicos e metoxílicos, dependendo da madeira. Trata-se de uma substância amorfa localizada na lamela média e na parede celular secundária. A lignina fortalece as fibrilas, e conseqüentemente enrijece as paredes celulares, pois é o último componente a ser incorporado no desenvolvimento celular da madeira, interpenetrando as fibrilas (KLOCK *et al.*, 2005).

3.4. Análise Química da Madeira

Segundo Klock *et al.* (2005), a análise química da madeira compreende a determinação da composição da madeira, igualmente a extração, purificação e caracterização de seus constituintes. Os métodos de análise podem variar, não só por a madeira ser um material natural e bem diverso, como também, de acordo com a precisão requerida e o objetivo da análise e finalidade.

Em geral, a principal dificuldade na análise química da madeira se refere ao fato de que as macromoléculas da parede celular se encontram numa associação ultraestrutural e química bem forte, sendo difícil a sua dissociação. Além desta, outra dificuldade encontrada é quanto a diversidade de componentes, os quais são diferentes em sua composição química e comportamento, além de serem diferentes entre espécies de madeira (KLOCK *et al.*, 2005).

3.5. Espécie de Madeira

3.5.1. *Castilla ulei* Warb.

A *Castilla ulei* Warb. é uma espécie arbórea de grande porte, podendo atingir até 35 metros de altura, cuja a base do tronco apresenta dilatações chamadas de sapopemas. Apresenta vasta distribuição, abrangendo deste o Estado do Pará até o Mato Grosso. Esta espécie pertence à família das Moraceae, e seu nome comum é Caucho, nome de origem tupi, formada pela junção de *caá*, que significa pau ou madeira, e *chô* ou *chu* que escorre ou chora, fazendo referência ao látex que ela produz. (PIO CORRÊA, 1984).

Por muito tempo supôs-se que esta espécie fosse a mesma *Castilla elástica* Cerv., cujas as características botânicas são bem semelhantes, e de onde extraem grande quantidade de borracha em toda a América Central. No entanto, o látex extraído da *C. elástica*, comparado ao da *C. ulei*, é de maior qualidade pois contém menor porção de resina, 9 a 10% contra 11,3%. (PIO CORRÊA, 1984).

Segundo Pio Côrrea (1984), para a extração do látex faz-se necessário a destruição da árvore, cujo o tronco é mole e fistuloso. Cada indivíduo, se bem desenvolvido, pode produzir até 25 quilogramas de borracha seca. De acordo com o processo de coagulação, os produtos comercializados recebem os seguintes nomes *sernamby de caucho*, *caucho prancha*, *caucho ball* e *caucho slab*.

3.6. Análise Estatística Multivariada

Os métodos estatísticos multivariados consideram as amostras e as variáveis num conjunto. Estes métodos juntamente com ferramentas computacionais viabilizam a obtenção de mais informações quando comparado com os procedimentos univariados, usualmente utilizados (CORREIA & FERREIRA, 2007; MOURA *et al.*, 2006; PANERO *et al.*, 2009).

A análise multivariada tem como principal vertente o reconhecimento de padrões não supervisionado, através da redução da representação dimensional dos dados, facilitando a visualização do conjunto total de dados (CORREIA & FERREIRA, 2007 MOURA *et al.*, 2006).

Dentre as técnicas de reconhecimento de padrões não supervisionado, que permitem verificar e evidenciar a similaridade ou diferenças entre as amostras num determinado conjunto de dados, se destacam Análise de Componentes Principais (Principal Component Analysis) – PCA e a Análise por Agrupamento Hierárquico (Hierarchical Cluster Analysis) – HCA (PANERO *et al.*, 2009). Segundo Neto & Moita (1997), estas técnicas de estatística multivariada têm grande aceitação na análise de dados químicos.

3.6.1. Análise por Agrupamento Hierárquico – HCA

A Análise por Agrupamento Hierárquico interliga as amostras de acordo com seu grau de similaridade, em cada passo um par até a reunião de todas as amostras, de modo a enfatizar os padrões de agrupamento naturais dos dados (MOURA *et al.*, 2006; NETO & MOITA, 1997; PANERO *et al.*, 2009). Os resultados são apresentados na forma de dendrograma, sendo que a distância entre as amostras ou grupos analisados, também chamados de *cluster*, expressam a

similaridade de suas propriedades. (PANERO *et al.*, 2009) A distância mais utilizada é a euclidiana, cuja a escala varia de zero, para amostras sem similaridade, até um, amostras similares. (NETO & MOITA, 1997; PANERO *et al.*, 2009; SOUZA, 2010)

As técnicas ou critérios de agrupamento são diversos, no entanto, o método Ward é o mais utilizado por ser o mais sensível a *outliers* dentro os demais métodos. Neste, o agrupamento ocorre considerando o menor incremento do erro na soma dos desvios quadráticos (SOUZA, 2010).

3.6.2. Análise do Componente Principal – PCA

Segundo Souza & Poppi (2012), a Análise do Componente Principal tem o objetivo de facilitar a visualização da estrutura dos dados, verificar a existência de similaridades entre as amostras, detectar as amostras anômalas ou divergentes (*outliers*), bem como reduzir o conjunto de dados. As informações contidas numa matriz n dimensional são comprimidas através de combinações lineares para, geralmente, 2 ou 3 dimensões (PANERO *et al.*, 2009).

Esse novo conjunto de variáveis é denominado de componentes principais, que são dispostos ortogonalmente entre si, logo, não correlacionados. As principais componentes principais explicam a maior parte da variância total do conjunto de dados, e assim, podem ser usadas para representa-lo (MOURA *et al.*, 2006).

O agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de uma matriz de *score* e *loadings* dos dados, cujo os eixos são os componentes principais. Os *scores* apresentam a composição dos componentes principais em relação às amostras, e os *loadings* fornecem essa composição relacionada às variáveis. O gráfico de *loadings* representa os padrões de agrupamento das amostras, enquanto que a análise conjunta dos gráficos de *score* e *loadings* permite observar a influência de cada variável original sobre cada amostra. (PANERO *et al.*, 2009)

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado na Área de Biodegradação e Preservação da Madeira e na Área de Química, Adesivos e Borracha Natural, ambos pertencentes ao Laboratório de Produtos Florestais - LPF, do Serviço Florestal Brasileiro – SFB.

4.1. Fungos Xilófagos

Foram utilizadas doze espécies de fungos xilófagos apodrecedores das quais seis pertencem aos fungos causadores de podridão branca, outros seis aos causadores de podridão parda, e um de podridão mole, os quais foram selecionados a partir da micoteca do Laboratório de Biodegradação e Preservação de Madeira do LPF.

A Tabela 1 ilustra a relação dos fungos e sua respectiva classe, que estão mantidos na coleção do LPF.

Tabela 1 - Relação dos fungos da coleção do LPF que foram utilizados nesse estudo.

Podridão branca	Podridão parda	Podridão Mole
<i>Trametes versicolor</i>	<i>Gloeophyllum trabeum</i>	<i>Chaetomiun globosum</i>
<i>Ganoderma applanatum</i>	<i>Gloeophyllum striatum</i>	
<i>Phanerochaete cryosporium</i>	<i>Coniophora puteana</i>	
<i>Schizophyllum communi</i>	<i>Lentinus lepideus</i>	
<i>Bjerkandera fumosa</i>	<i>Lentinula edodes</i>	
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	<i>Meruliporia incrassata</i>	

4.2. Corpos de Prova e Tratamentos

Para o presente estudo, foi utilizada a espécie *Castilla ulei*, cujo nome comum é Caucho, sem nenhum tratamento. Foram preparados corpos de prova nas dimensões de 2,5 x 2,5 x 0,9 cm, sendo a menor dimensão no sentido axial, os quais foram utilizados no ensaio acelerado de ataque de fungos apodrecedores em laboratório.

Os tratamentos foram combinados tendo como base os fungos apodrecedores e a espécie de madeira, além do controle para cada espécie de fungo, que serviu de base para a avaliação do vigor dos fungos.

A revisão da norma ASTM D 2017 (2005), sugere a realização de 120 repetições por tratamento, no caso de caracterização do ataque de fungos, como o objetivo desse estudo é apenas a avaliação do potencial de ataque dos referidos fungos apodrecedores, foram adotadas para cada tratamento 40 repetições; totalizando 520 corpos de prova para a execução do projeto, somados as 16 repetições por fungo referentes ao controle, 224 corpos de prova. A Tabela 2 ilustra os tratamentos utilizados na execução do experimento.

Tabela 2 - Tratamentos utilizados no experimento distribuídos por classe de fungos, espécies de madeira, e respectivo número de corpos de prova.

Classe dos Fungos	Espécie do Fungo	Tratamento		Controle	
		Espécie de Madeira	Nº Corpos de Prova	Espécie de Madeira	Nº Corpos de Prova
Podridão branca	<i>Trametes versicolor</i>	<i>Castilla ulei</i>	40	<i>Cecropia ssp</i>	16
	<i>Ganoderma applanatum</i>		40		16
	<i>Phanerochaete crysosporium</i>		40		16
	<i>Schizophyllum communi</i>		40		16
	<i>Bjerkandera fumosa</i>		40		16
	<i>Pycnoporus sanguíneos</i>		40		16
Podridão parda	<i>Gloeophyllum trabeum</i>		40	<i>Pinus ssp</i>	16
	<i>Gloeophyllum striatum</i>		40		16
	<i>Coniophora puteana</i>		40		16
	<i>Lentinus lepideus</i>		40		16
	<i>Lentinula edodes</i>		40		16
	<i>Meruliporia incrassata</i>		40		16
Podridão mole	<i>Chaetomiium globosum</i>		40	<i>Cecropia ssp</i>	16
				<i>Pinus ssp</i>	16
Total	13	-	520	-	224

Previamente, os corpos de prova foram acondicionados em estufa de circulação forçada de ar, da marca Nova Ética, modelo 400/6ND, à 50°C de temperatura até que atingirem massa constante, de forma a possibilitar que os resultados de massa (g) antes do ataque sejam obtidos nas mesmas condições que depois do ataque dos fungos. A massa de cada corpo de prova foi obtida por meio de uma balança de precisão (0,001g), da marca Shimadzu, modelo AY 220.

Antes ainda de serem colocados em contato com os fungos, os corpos de prova foram esterilizados em autoclave, a 120°C durante 1 hora, para eliminar os possíveis focos de contaminação que possam alterar os resultados do experimento (Figura 1).



Figura 1 - Corpos de prova dispostos em bandeja de alumínio prontos para climatização em estufa (a); corpos de prova embalados em papel alumínio e levados a autoclave (b, c).

4.3. Ensaio Acelerado de Ataque dos Fungos

Este ensaio foi realizado conforme a norma ASTM D 2017 (2005), utilizando-se frascos de vidro de boca larga, com tampa metálica rosqueável.

4.3.1. Preparo do substrato

Como substrato foi utilizado solo do horizonte B de latossolo vermelho, de amostra retirada da Fazenda Água Limpa - FAL, pertencente à Universidade de Brasília - UnB. O pH do solo foi corrigido para um valor próximo ao pH da madeira (4,5 a 5,5), e seco em estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pelo período de 24 horas.

Para que haja umidade, elemento essencial para a sobrevivência e bom desenvolvimento dos fungos, foi necessário a adição de aproximadamente 28 mL de água, que corresponde à, aproximadamente, 130% da Capacidade de Retenção de Água (CRA), estabelecida de acordo com a Equação 1.

A CRA, representada por A na equação, foi obtida através da porcentagem de massa perdida depois do solo ser mantido 24 horas em estufa, à 103°C , relacionando a massa inicial e a massa do solo após esse tratamento; e que a quantidade de solo seco a ser adicionada (D) corresponde a 70g de solo por frasco.

$$QA = 1,30x(A - B)x\left(\frac{D}{100+B}\right) \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

QA - quantidade de água a ser adicionada (g);

A - capacidade de retenção de água do solo (%);

B - conteúdo de umidade do solo seco ao ar (%);

D - quantidade de solo seco a ser adicionada nos frascos (g).

4.3.2. Placa suporte

Cada frasco recebeu, sob o solo devidamente preparado e adicionado de água, uma placa suporte de madeira com dimensões de 35 x 29 x 3 mm. Para essas placas foram utilizadas espécies de madeiras susceptíveis ao ataque dos fungos xilófagos escolhidos, e assim estas servem inicialmente de substrato para o desenvolvimento destes microorganismos. Sendo assim, utilizaram-se duas espécies de madeiras, sendo que para os fungos de podridão branca, selecionou-se uma espécie de folhosa, *Cecropia ssp.*, e para a podridão branca, uma conífera, *Pinus ssp.*

Após o preparo dos frascos, estes foram esterilizados em autoclave durante uma hora, a aproximadamente 120°C de temperatura. Posteriormente foram acondicionados em sala de incubação à 27 ± 1 °C de temperatura e $70 \pm 5\%$ de umidade relativa do ar durante dez dias.

4.3.3. Repicagem dos fungos

O meio de cultura utilizado foi tanto o líquido quanto o sólido, à base de extrato de malte e água destilada. A repicagem dos fungos foi realizada de forma asséptica em capela de fluxo laminar, coletando os inóculos de micélios dos fungos, com cerca de 1cm³, e posteriormente adicionados ao meio de cultura devidamente preparado.

Os meios de cultura devidamente inoculados foram levados para sala de incubação onde permaneceram por 15 dias, em condições de temperatura e umidade semelhantes aos frascos, para que os fungos pudessem se desenvolver.

4.3.4. Inoculação e incubação dos fungos

O processo de inoculação consiste na retirada do micélio do fungo repicado e sua transferência para a placa suporte presente no frasco de vidro preparado e esterilizado, de forma que o micélio fique em contato tanto com a placa suporte quanto com o solo. O frasco de vidro inoculado foi levado à incubadora onde permaneceu por um período de 4 a 8 semanas, para que o fungo colonizasse completamente.

4.3.5. Período de ataque dos fungos

Após o processo de esterilização dos corpos de prova em autoclave, estes foram introduzidos, de forma asséptica, com o auxílio de uma pinça, nos frascos contendo o fungo já colonizado na placa suporte e retornaram à sala de incubação, onde permaneceram até completar 12 semanas, período total do experimento (Figura 2).



Figura 2 - Corpo de prova sobre a placa suporte, inoculada com o fungo *Gloeophyllum striatum*.

4.3.6. Retirada dos corpos de prova

Os corpos de prova foram retirados dos frascos com auxílio de uma pinça e submetidos a uma cuidadosa remoção do excesso de micélio aderido à superfície da madeira. Em seguida, foram acomodados em bandejas e levados a estufa convencional de circulação forçada de ar, sendo mantidos até atingirem massa constante (Figura 3).

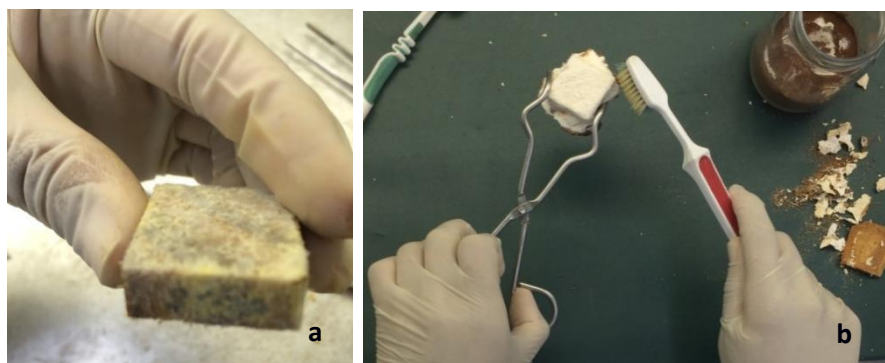


Figura 3 - Limpeza para a remoção do micélio do fungo aderido ao corpo de prova, e os utensílios utilizados (a,b)

4.3.7. Perda de massa

Após os corpos de prova atingirem massa constante, durante o seu acondicionamento em estufa, foi obtida a massa após o ataque dos fungos. Assim, a perda de massa foi calculada através da diferença entre a massa inicial, referente a massa obtida antes do ataque, e a massa final, depois do ataque acelerado, dos corpos-de-prova, a partir da Equação 2.

$$PM = \frac{m_i - m_f}{m_f} \times 100$$

Equação 2

Onde:

PM - perda de massa (%);

m_i - massa inicial (g);

m_f - massa final (g).

Em função do resultado da perda de massa foi determinada a classificação da resistência natural da espécie de madeira frente ao ataque dos fungos apodrecedores, segundo os critérios estabelecidos pela norma, ASTM D 2017 (2005), apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Classificação da resistência da madeira, em função de sua perda de massa.

Perda de Massa (%)	Massa Residual (%)	Categoria Indicada de Resistência a um Fungo Específico Testado
0 a 10	90 a 100	Altamente Resistente
11 a 24	76 a 89	Resistente
25 a 44	56 a 75	Moderadamente Resistente
45 ou mais	55 ou menos	Pouco ou Não Resistente

Fonte: Norma ASTM D 2017 (2005).

4.4. Análise Química

Este ensaio foi realizado determinando-se o teor de extrativos em etanol:tolueno, lignina ácida solúvel e insolúvel, holocelulose e cinzas, seguindo-se as orientações das respectivas normas apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Análises químicas realizadas e as respectivas normas seguidas.

Análises	Normas
Teor de extrativos (etanol:tolueno)	TAPPI - 204 om-88
Teor de cinzas livre de extrativos	TAPPI – 211 om-93
Teor de lignina ácida insolúvel	NREL LAP-003
Teor de lignina ácida solúvel	NREL LAP-004
Teor de holocelulose	Obtido por diferença

4.4.1. Preparação das amostras

Após a conclusão do ensaio de biodeterioração, os corpos de prova foram reduzidos em pequenas fatias e depois submetidos a moagem usando moinho tipo Willey (Figura 4a). A fração que passou pela malha 40 mesh e foi retida na de 60 mesh, selecionada através de peneiras para classificação granulométrica foi a utilizada nessa análise (Figura 4b). Nessa etapa, houve 14 tratamentos, 13 de acordo com o ataque dos fungos em que a *Castilla ulei* foi submetida e um grupo testemunha, representada por corpos de prova que não foram expostos a nenhum tratamento, nesse caso, ao ataque dos fungos apodrecedores. A amostragem testemunha teve a finalidade de servir de parâmetro para comparação entre as outras amostras.



Figura 4 - Moinho do tipo Wiley utilizado para reduzir os corpos de prova (a) e peneiras para classificação granulométrica utilizada para separar as partículas entre 40 e 60 mesh (b).

4.4.2. Teor de Umidade

A umidade do material é considerada em todas as etapas de análise química, e são verificadas conforme foram realizadas as etapas descritas abaixo. Os dados são obtidos por diferença gravimétrica, utilizando balança analítica (0,1 mg) da marca BEL, modelo UMark 210A.

Foram realizadas triplicadas, cada qual contendo um grama do material em pratos metálicos. Esse material é conduzido a estufas de circulação e renovação de ar, da marca Marconi, modelo MA 037. Em que a massa é verificada após 2 horas, 3 horas e 4 horas, utilizando o menor desses valores.

4.4.3. Teor de extrativos

A metodologia utilizada nessa etapa está descrita na norma T204 om-88, e tem a finalidade de obter um material livre de extrativos e a sua quantificação. Foram realizadas análises triplicadas, e o teor de extrativo equivale a média destes. De forma geral, as amostras, de massa conhecida, foram depositadas em tubos de celulose e submetidas à extração com o solvente etanol:tolueno (1:2, v/v), por intermédio de extratores *soxhlet* (Figura 5a).

O processo de extração em *soxhlet* com etanol:tolueno prosseguiu até que não houvesse mais alteração na coloração do solvente. Assim os balões de 300 mL, após essa extração, foram levados a estufa com circulação e renovação de ar, à temperatura de 115 ± 3 °C por 2 horas, afim de favorecer a evaporação do solvente e permitir que apenas os extrativos ficassem depositados nos balões. O teor de extrativos foi obtido através dessa variação de peso dos balões antes e após a extração, considerando a massa do material nos tubos de celulose.

Para prosseguir com a limpeza, o material ainda depositado nos tubos de celulose foi submetido a extração sequencial com etanol por intermédio de extratores *soxhlet*. Esse processo foi finalizado quando o solvente em contato com o tubo de celulose apresentou coloração límpida. E por fim, após secarem, as amostras foram retiradas dos tubos de celulose e transferidas para *Erlenmeyers* para a lavagem com água quente em *banho-maria* (Figura 5b), em temperatura próxima a 100°C, com duração de 1 hora. Posteriormente, foi realizada a filtração à vácuo, como continuação da limpeza, e o material ficou repousando até secar, para então ser submetido as fases seguintes.

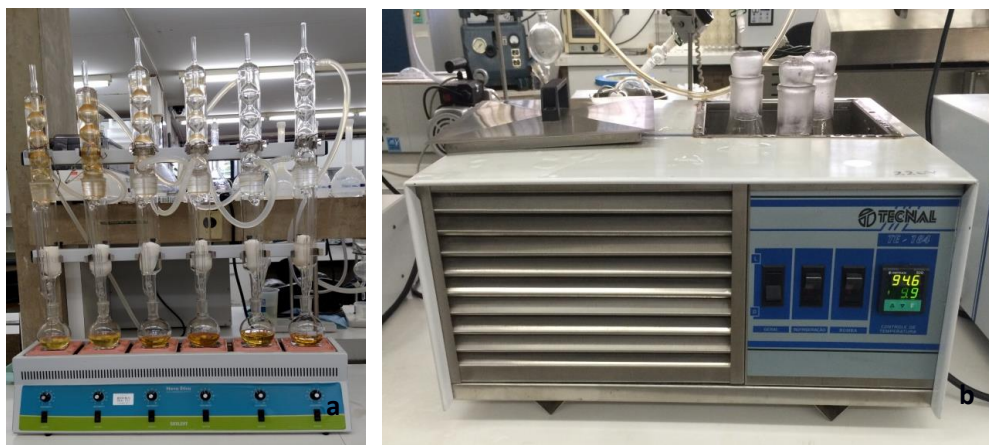


Figura 5 - Extratores do tipo *soxhlet* com tolueno:etanol (a); e equipamento para realização de banho-maria, para limpeza com água (b).

4.4.4. Teor de Lignina

Seguindo a metodologia descrita nas normas NREL LAP-003 e NREL LAP-004, foram determinados, respectivamente, os teores de lignina ácida insolúvel e solúvel. Para esta também foram realizadas triplicadas, em que cada amostra contendo aproximadamente 0,3g foi inserida num tubo de ensaio onde em seguida foi acrescido $3,0 \pm 0,01$ mL de solução de ácido sulfúrico 72% (p/p) (Figura 5a). Estes foram, posteriormente, submetidos a *banho-maria* sob temperatura constante de 30 ± 1 °C por 2 horas, e com auxílio de um bastão de vidro, de 15 em 15 minutos, a mistura foi mexida (Figura 5b).

Após o banho-maria, o conteúdo dos tubos foi transferido para frascos de penicilina em que foram acrescentados 84 mL de água deionizadas com o objetivo de reduzir a concentração de ácido sulfúrico para 4%. Os frascos foram lacrados e vedados com lacre metálico e levados a autoclave, da marca Phoenix Luterco, à temperatura de 120 ± 1 °C pelo período de 1 hora, para continuação da hidrólise. Posteriormente as amostras foram mantidas a temperatura ambiente.

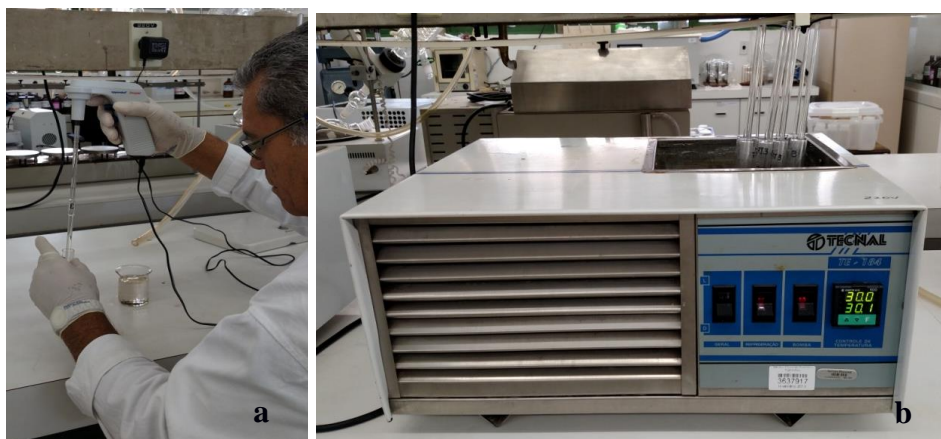


Figura 6 - Adição da solução de ácido sulfúrico 72% nos tubos de ensaio com aproximadamente 0,3g de amostra cada (a); tubos de ensaios submetidos ao *banho-maria* sob temperatura de 30 ± 1 °C.

A filtração a vácuo ocorreu em cadinho de filtragem de porosidade fina com água deionizada quente, até que a água remanescente da filtração apresentasse coloração límpida. Os cadinhos foram pesados antes da filtração. E após esse processo de filtração, os cadinhos juntamente com o material retido neles, foram levados a estufa, à 105 ± 3 °C durante 2 horas, até atingirem massa constante (Figura 7). A partir dessa diferença de massa foi obtido o teor de lignina insolúvel.



Figura 7 - Cadinho filtrante de porosidade fina com material lignocelulósico insolúvel, prontos para serem levados a estufa

A lignina ácido solúvel foi obtida pelo líquido proveniente da primeira a filtração à vácuo, cuja a concentração de ácido sulfúrico é conhecida. Este líquido foi analisado em espectrofotômetro UV, da marca Femto, cuja absorvância obtida foi medida com o comprimento de onda de 205 nm (Figura 8).

A amostra foi diluída de forma que sua absorvância resultante esteja entre 0,2 e 0,7, conforme orientações da NREL LAP 004. O ácido sulfúrico a 4% foi utilizado para calibrar o equipamento, como branco de referência, estando diluído na mesma proporção que a amostra.

$$LS = \frac{(A/110 \times fd \times 87/1000)}{m_s} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

A: Absorvência à 205 nm

fd: fator de diluição

m_s : peso da amostra seca



Figura 8 - Espectrofotômetro UV calibrado com absorvância de 205 mm utilizado na obtenção da lignina ácido solúvel.

4.4.5. Teor de Cinzas

Para a obtenção do teor de cinzas livres de extrativos, seguindo as orientações da norma T – 211 om-93, a amostra foi submetida à calcinação em forno mufla, da marca Quimis, modelo Q318M24, à temperatura de $525\pm 25^{\circ}\text{C}$ pelo método gravimétrico, isto é, pesagem anterior e posterior a calcinação (Figura 9). O preparo dos cadinhos de porcelana se deu pela calcinação dos mesmos, no forno de mufla, com temperatura de 1.000°C .

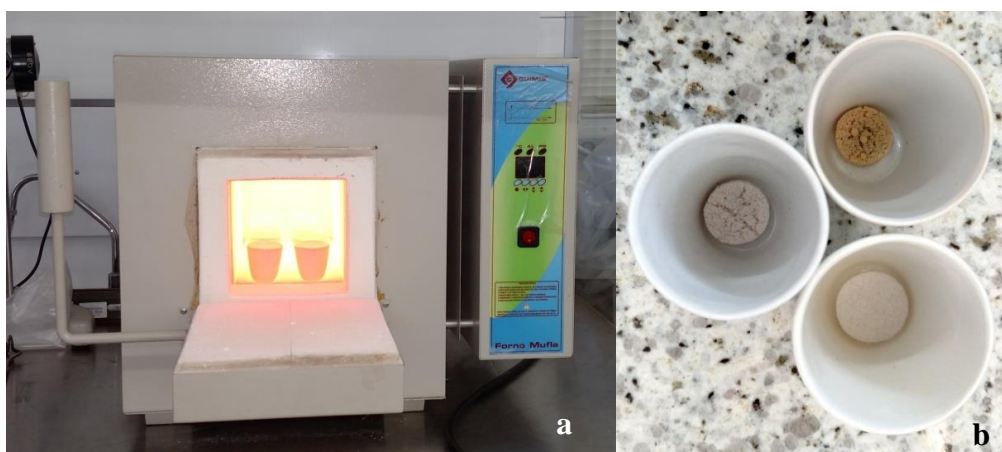


Figura 9 - Forno mufla utilizado para a calcinação, e os cadinhos em seu interior esperando resfriamento (a); cinzas obtidas após o processo dentro dos cadinhos de porcelana (b).

4.4.6. Teor de Holocelulose

O teor de polissacarídeos, também denominado de holocelulose, composto pela celulose e hemicelulose. Foi obtido a partir do material livre de extrativos, considerando a massa 100% e reduzindo os teores de lignina ácida total e os teores de cinza obtidos à temperatura de $525\pm 25^{\circ}\text{C}$.

$$\text{HC} = 100 - \text{LT} - \text{C525} \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

HC: teor de holocelulose (%)

LT: teor de lignina ácida total (%), obtida pela soma da lignina ácida solúvel e insolúvel.

C525: teor de cinzas obtidas à temperatura de $525\pm 25^{\circ}\text{C}$ (%).

4.5. Análise dos Resultados

Os resultados obtidos, no ensaio acelerada de ataque de fungos, foram submetidos a uma análise de variância, com o objetivo de determinar a diferença de resistência natural entre os fungos estudados para uma espécie de madeira, e a comparação de média através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do software Assistat versão 7.7 beta.

Utilizado o Suplemento Multibase 2015 do Excel (NumericalDynamics.com, 2015), foi realizada a Análise de Componentes Principais – PCA e a Análise por Agrupamento Hierárquico - HCA dos dados químicos. Os parâmetros utilizados nessas análises foram o teor de extrativos, teor de lignina ácida solúvel e insolúvel, teor de cinzas e a perda de massa.

Como recomendado por Panero *et al* (2009), os dados foram pré-processados e escalados antes das análises de PCA e HCA, em virtude da grande variação das grandezas das escalas dos resultados., através da subtração da média nos dados originais e divisão desse valor pelo desvio padrão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme comentado anteriormente, no controle, foram usadas madeiras de referências para cada grupo de fungo, sendo para a podridão branca (pb), a *Cecropia ssp*, e para a podridão parda (pp), *Pinus ssp*, com exceção para a podridão mole (pm), onde ambas as madeiras foram utilizadas. Os valores médios de perda de massa obtidos a partir do controle atestam as condições gerais de ensaios, se foram favoráveis ao crescimento dos fungos e que as culturas empregadas estavam em pleno vigor vegetativo, de acordo com a norma (MENDES *et al.*, 2014; VIVIAN *et al.*, 2015). A Tabela 5 apresenta esses valores de referência.

Apesar dos baixos valores de perda de massa do único fungo de podridão mole analisado, *Chaetomium globosum*, este apresentou maior perda de massa, quando a madeira utilizada como referência foi a *Cecropia ssp*, com média de 5,01%, em relação ao *Pinus ssp*, 1,36%. As outras classes de fungos, branca e parda, apresentaram valores bem distintos entre as espécies de fungos utilizados. Alguns apresentaram desempenho preocupante, abaixo de 5%, como *Schizophyllum commune*, *Coniophora puteana* e *Lentinula edodes*. Outros tiveram resultados bem satisfatórios, perda de massa acima de 40%, como exemplo o *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Gloeophyllum trabeum*, *Lentinus lepideus* e *Meruliporia*

incrassata. Entretanto, esse último fungo apresenta desvio padrão de 18,36, maior desvio padrão observado, valor muito alto que mostra uma enorme variação em relação à média apresentada.

Tabela 5 - Percentual médio de perda de massa e a classificação das madeiras nas classes de resistência usadas como controle.

Fungos	Massa antes (\bar{g})	Massa depois (\bar{g})	Perda de Massa (%)	Classe de Resistência
<i>Trametes versicolor</i>	2,46	1,16	52,80 (9,46)	Pouco ou Não Resistente
<i>Ganoderma applanatum</i>	2,41	1,57	34,56 (9,53)	Moderadamente Resistente
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	2,51	1,41	43,53 (6,59)	Moderadamente Resistente
<i>Schizophyllum commune</i>	2,49	2,39	4,02 (1,03)	Altamente Resistente
<i>Bjerkandera fumosa</i>	2,51	2,03	19,32 (3,61)	Resistente
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	2,53	1,63	39,33 (3,65)	Moderadamente Resistente
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	2,57	1,50	47,47 (14,50)	Pouco ou Não Resistente
<i>Gloeophyllum striatum</i>	2,45	1,60	36,92 (6,80)	Moderadamente Resistente
<i>Coniophora puteana</i>	2,78	2,70	2,99 (3,35)	Altamente Resistente
<i>Lentinus lepideus</i>	2,66	1,78	51,07 (4,33)	Pouco ou Não Resistente
<i>Lentimula edodes</i>	2,60	2,49	4,55 (1,37)	Altamente Resistente
<i>Meruliporia incrassata</i>	2,69	1,56	48,42 (18,36)	Pouco ou Não Resistente
<i>Chaetomium globosum</i>	2,45	2,34	5,01 (1,91)	Altamente Resistente
	2,52	2,49	1,36 (0,48)	Altamente Resistente

Valores dentro dos parênteses são os desvios padrões.

Já a Tabela 6 apresenta os valores de perda de massa média obtidos com a espécie de madeira *Castilla ulei*. Os resultados indicaram que o fungo *Trametes versicolor* (pb) foi o que apresentou maiores valores de perda, superiores a 60%, sendo seguidos pelo *Phanerochaete chrysosporium* (pb) e *Gloeophyllum trabeum* (pp), com valores superiores à 50%, enquadrando a madeira testada como pouco ou não resistente. Seguido pelo *Gloeophyllum striatum* (pp), valor um pouco superior a 45%, ainda na mesma classe. Na classe moderadamente resistente, para a madeira estudada, se enquadram, na seqüência, os seguintes

fungos: *Meruliporia incrassata* (pp), *Ganoderma applanatum* (pb), *Pycnoporus sanguineus* (pb) e *Lentimula edodes* (pp).

Tabela 6 - Percentual médio de perda de massa e a classificação da *Castilla ulei* nas classes de resistência.

Fungos	Massa antes (\bar{g})	Massa depois (\bar{g})	Perda de Massa (%)	Classe de Resistência
<i>Trametes versicolor</i> (40)	2,49	0,98	61,07 (11,90)	Pouco ou Não Resistente
<i>Ganoderma applanatum</i> (39)	2,45	1,49	39,71 (5,81)	Moderadamente Resistente
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (40)	2,49	1,07	57,18 (6,56)	Pouco ou Não Resistente
<i>Schizophyllum commune</i> (40)	2,45	2,29	6,51 (1,22)	Altamente Resistente
<i>Bjerkandera fumosa</i> (39)	2,51	1,99	21,13 (5,44)	Resistente
<i>Pycnoporus sanguineus</i> (40)	2,47	1,53	37,99 (2,68)	Moderadamente Resistente
<i>Gloeophyllum trabeum</i> (37)	2,48	1,19	55,97 (13,46)	Pouco ou Não Resistente
<i>Gloeophyllum striatum</i> (36)	2,50	1,46	45,47 (6,91)	Pouco ou Não Resistente
<i>Coniophora puteana</i> (30)	2,50	2,32	10,85 (9,15)	Altamente Resistente
<i>Lentinus lepideus</i> (39)	2,49	2,39	3,90 (4,33)	Altamente Resistente
<i>Lentimula edodes</i> (40)	2,45	1,58	35,56 (5,73)	Moderadamente Resistente
<i>Meruliporia incrassata</i> (26)	2,50	1,73	44,26 (17,23)	Moderadamente Resistente
<i>Chaetomium globosum</i> (39)	2,50	2,07	17,25 (3,58)	Resistente

Valores dentro dos parênteses após o nome correspondem ao número de repetição, e os após a perda de massa referem aos desvios padrões da média.

Os corpos de prova submetidos aos fungos *Coniophora puteana* (pp), *Schizophyllum commune* (pb) e *Lentinus lepideus*(pp), apresentaram-se altamente resistentes Esses valores baixos podem estar associados ao desenvolvimento mais lento que estes fungos apresentaram.

Na classe de resistente, se encontra a madeira submetida aos fungos *Bjerkandera fumosa* (pb) e *Chaetomium globosum* (pm).

Como observado na Figura 10, para a maioria dos fungos a perda de massa sofrida pelos corpos de prova da *Castilla ulei* foram superiores aos valores obtidos no controle. Exceto três espécies de fungos, a *Lentinus lepideus*, em que a diferença foi de 47,17, além do *Meruliporia incrassata* e *Pycnoporus sanguineus*, cujos valores foram bem próximos, com as respectivas diferenças de 4,16 e 1,34 unidades.

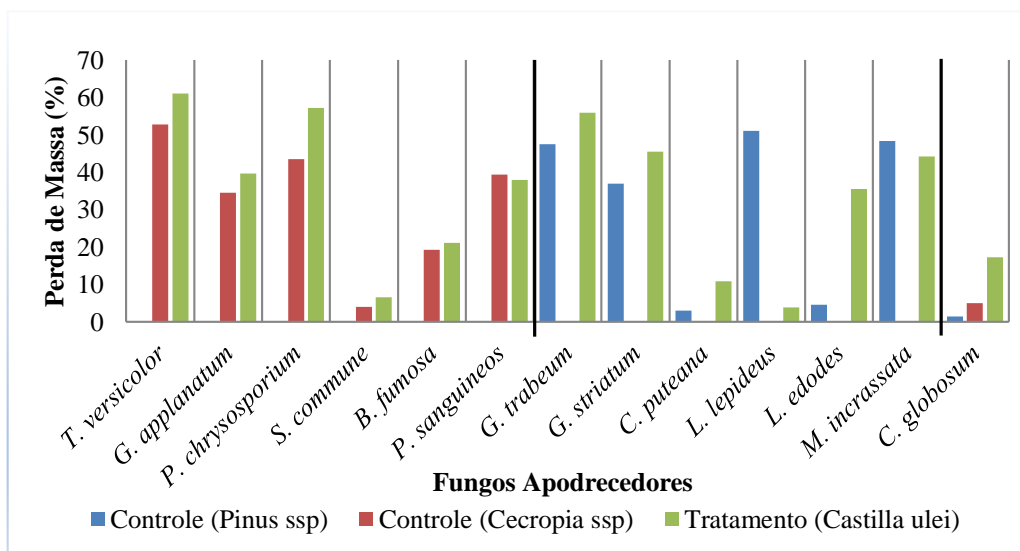


Figura 10 - Perda de massa das espécies de madeira controle com a espécie *Castilla ulei*.

Com o objetivo de determinar a existência de diferença entre os valores de perda de massa para cada fungo estudado, e a mesma espécie de madeira, foi realizada a análise de variância, apresentada na Tabela 7. Percebe-se que o valor de fonte de variação entre os grupos foi significativo a 1% de probabilidade de erro, ou seja, há diferença entre a perda de massa causada pelos fungos.

Tabela 7 - Análise de variância para perda de massa da espécie *Castilla ulei* submetida ao apodrecimento acelerado por treze fungos.

Fonte da variação	GL	SQ	MQ	F	F crítico
Entre grupos	12	177124,31	14760,36	230,4646**	1,7727
Dentro dos grupos	472	30229,76	64,05		
Total	484	207354,07	-	-	-

GL: grau de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; F: significância; **significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0,01$).

De acordo com o teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%, as médias que estão seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, como mostrado na Tabela 8.

Assim, a perda de massa causada pelo fungo *Trametes versicolor* (pb) foi, estatisticamente, semelhante ao *Phanerochaete chrysosporium* (pb), e ao *Gloeophyllum trabeum* (pp), e os três se enquadraram na mesma classe de perda de massa, pouco ou não resistente.

Tabela 8 - Média de perda de massa dos treze fungos apodrecedores para a espécie *Castilla ulei*.

Fungos	Perda de Massa (%)
<i>Trametes versicolor</i>	61,07 a
<i>Ganoderma applanatum</i>	39,71 bcd
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	57,18 a
<i>Schizophyllum commune</i>	6,51 gh
<i>Bjerkandera fumosa</i>	21,13 e
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	37,99 cd
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	55,97 a
<i>Gloeophyllum striatum</i>	45,47 b
<i>Coniophora puteana</i>	10,85 fg
<i>Lentinus lepideus</i>	3,90 h
<i>Lentinula edodes</i>	35,56 d
<i>Meruliporia incrassata</i>	44,26 bc
<i>Chaetomium globosum</i>	17,25 ef

As médias com as mesmas letras diferem estatisticamente entre si (Tukey $p > 0,05$).

Os fungos cuja madeira foi classificada como altamente resistente, *Schizophyllum commune* (pb), *Coniophora puteana* (pp) e *Lentinus lepideus* (pp), foram estatisticamente semelhantes entre si, mas diferiram dos demais fungos. O mesmo ocorreu com os da classe resistente, *Bjerkandera fumosa* (pb) e *Chaetomium globosum* (pm).

A Tabela 9 apresenta os resultados da análise química à qual os corpos de prova foram submetidos após o ataque dos fungos apodrecedores, em relação à madeira não exposta aos fungos, testemunha. O fungo *Meruliporia incrassata* apresentou os maiores valores de teor de extrativos e de lignina ácida insolúvel. O *Pycnoporus sanguineus* apresentou os valores máximos de teor de lignina ácida solúvel e de holocelulose. Já o *Gloeophyllum trabeum* apresentou o maior teor de lignina ácida total, além do teor de cinzas à 525°C.

Percebe-se uma maior influência dos teores de lignina ácida insolúvel, em relação aos teores de lignina ácida solúvel, sobre os teores de lignina ácida total, devido a grandeza de seus valores. O fungo *Pycnoporus sanguineus* apresentou o maior teor de holocelulose (78,02%), consequentemente o menor teor de lignina ácida total (21,53%), assim, foi o que mais deteriorou a lignina, em relação aos teores apresentados na testemunha. Entretanto, o

Gloeophyllum trabeum apresentou o menor teor de holocelulose (65,98%), e o máximo teor de lignina ácida total (33,43%).

Tabela 9 - Análise química da madeira de *Castilla ulei* após o ataque dos treze fungos apodrecedores.

Tratamentos	PM (%)	Ext (%)	LI (%)	LS (%)	LT (%)	C525 (%)	HC (%)
Testemunha	-	3,06	25,95	1,32	27,27	0,34	72,39
<i>Trametes versicolor</i>	61,07	↑5,57	↓23,74	↑1,90	↓25,64	↑0,41	↑73,95
<i>Ganoderma applanatum</i>	39,71	↑5,49	↓20,77	↑1,97	↓22,74	↑0,52	↑76,75
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	57,18	↑5,83	↓23,38	↓1,18	↓24,56	↑0,42	↑75,02
<i>Schizophyllum commune</i>	6,51	↓2,15	↑26,29	↑1,36	↑27,64	↑0,43	↓71,93
<i>Bjerkandera fumosa</i>	21,13	↓2,59	↑27,14	↓1,29	↑28,43	↑0,44	↓71,14
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	37,99	↑3,07	↓19,18	↑2,34	↓21,53	↑0,45	↑78,02
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	55,97	↑5,70	↑31,85	↑1,58	↑33,43	↑0,59	↓65,98
<i>Gloeophyllum striatum</i>	45,47	↑6,86	↑31,43	↑1,63	↑33,05	↓0,30	↓66,65
<i>Coniophora puteana</i>	10,85	↓1,67	↑26,88	↑1,49	↑28,37	↓0,27	↓71,36
<i>Lentinus lepideus</i>	3,90	↓1,82	↑27,62	↑1,37	↑28,98	↓0,31	↓70,71
<i>Lentimula edodes</i>	35,56	↑4,04	↓23,67	↑1,70	↓25,37	↓0,30	↑74,33
<i>Meruliporia incrassata</i>	44,26	↑7,38	↑31,94	↑1,47	↑33,41	↑0,41	↓66,18
<i>Chaetomium globosum</i>	17,25	↑3,23	↑29,55	↑1,38	↑30,93	↑0,37	↓68,70

PM: perda de massa; Ext: teor de extrativos; LI: teor de lignina ácida insolúvel; LS: teor de lignina ácida solúvel; LT: teor de lignina ácida total; C525: teor de cinzas à 525°C; HC: teor de holocelulose; ↓↑: indicam a variação de teores dos componentes em relação aos teores obtidos para a testemunha.

Em termos gerais, como esperado, os fungos de podridão parda apresentaram os menores teores de holocelulose, demonstrando que estes degradaram especialmente este componente da madeira, e conseqüentemente, apresentaram aumento nos teores de lignina ácida total. A exceção foi o fungo *Lentimula edodes*, cujo o comportamento foi o inverso. Para todas as classes de podridão, com exceção da podridão mole e dos fungos *Meruliporia incrassata*, *Gloeophyllum trabeum* e *Gloeophyllum striatum*, o sentido do comportamento nos teores de holocelulose é reproduzido nos teores de extrativos, isto é, aumento no teor de holocelulose acontece juntamente com aumento no teor de extrativo.

Os baixos teores de extrativos obtidos sob o ataque do fungo *Coniophora puteana* (1,67%), inferior até à testemunha, indicando que este fungo deteriorou esse componente, mais do que os demais fungos. E o alto teor deste mesmo componente, extrativo, para o fungo *Meruliporia incrassata* (7,38%), demonstra que esse componente não foi deteriorado pelo fungo, mas se comparado aos teores dos demais componentes percebe-se que sua ação enzimática se concentrou na holocelulose, causando a perda de massa de 44,26%.

No entanto, é difícil definir como os fungos se comportaram em relação ao extrativo, pois não há informações quanto a composição do mesmo, e também em relação ao comportamento enzimático em relação a ação deteriorante de cada fungo estudado. Mas, é possível observar que os fungos, cujos os valores de perda de massa foram superiores a 35% apresentaram aumento no teor de extrativos, demonstrando que este não atuou como inviabilizador do ataque dos fungos, entretanto, estes fungos não demonstraram preferência pelo extrativo. Exceção para *Chaetomium globosum*, que apresentou perda de massa menor que 35%, mas, aumento no teor de extrativos em relação à testemunha.

Para a Análise por Agrupamento Hierárquico (HCA) e Análise de Componentes Principais (PCA), apenas os valores obtidos diretamente (perda de massa, extrativos, lignina ácida solúvel e insolúvel e teor de cinzas à 525°C) foram utilizados, e a testemunha foi excluída nessa análise. Anteriormente, os dados foram tratados escalando-os pelo desvio padrão. O cálculo da distância entre os tratamentos, para construir o dendrograma de HCA, foi realizado pela distância euclidiana, e o método de agrupamento foi o Ward.

O dendrograma obtido pela análise HCA, seccionado na linha tracejada, evidencia a separação de quatro grupos (Figura 11). O primeiro grupo composto apenas por fungos de podridão branca, e o terceiro, unicamente por fungos podridão parda. Já o segundo e o quarto grupo apresentaram as classes de fungos misturadas.

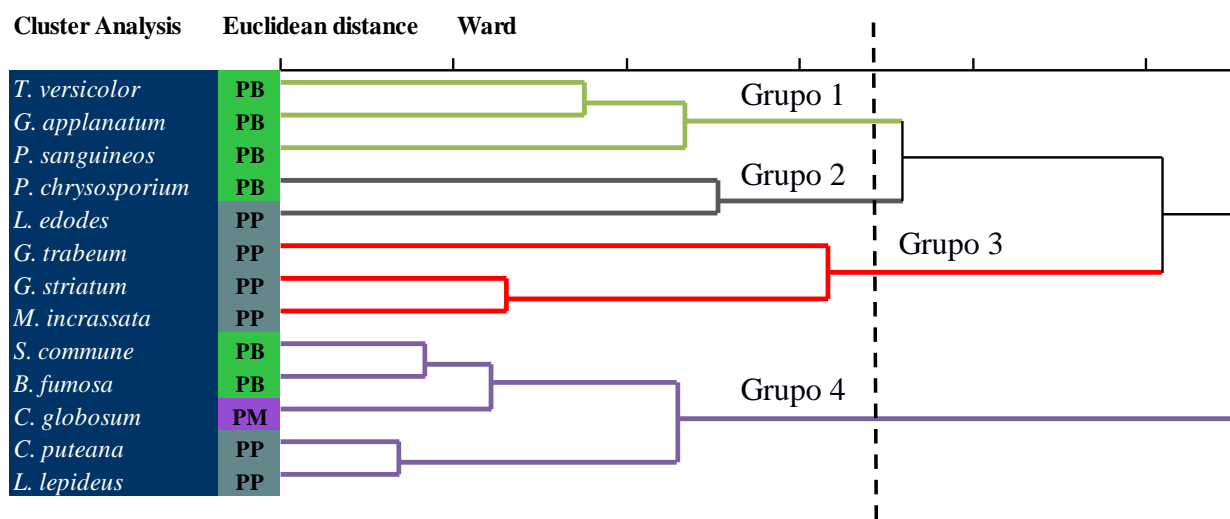


Figura 11 - Dendrograma dos dados auto escalados e segregados de acordo com a classe de podridão dos fungos analisados.

A realização da PCA demonstrou que o primeiro componente (PC1) explica 45,1% da variância, e o segundo componente (PC2) explica 31,2 %; totalizando 76,3% juntando os dois componentes. O gráfico de *score*, apresentado na Figura 12, não apresenta distinção entre as

classes de podridão, havendo áreas de sobreposição das categorias. As bolas verdes representam os fungos de podridão branca, as cinzas os de podridão parda e o roxo o de podridão mole. No entanto, pode-se observar que apesar dessas classes de podridão não formarem grupos distintos, é possível observar uma tendência de posicionamento dos fungos semelhante a divisão dos quatro grupos obtidos pela HCA, evidenciada na Figura 13.

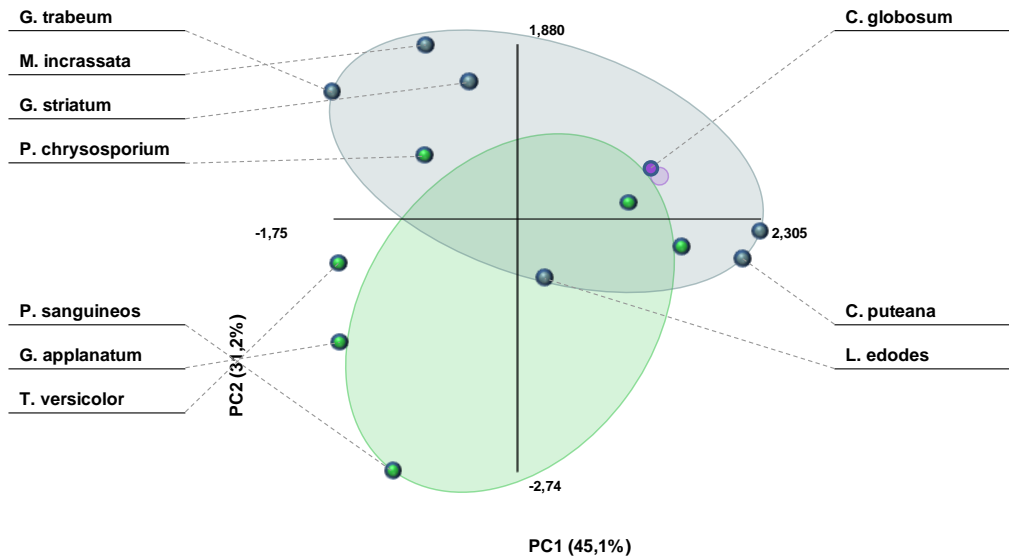


Figura 12 - Gráfico de *scores* entre a PC1 e PC2, com variação total de 76,3%. Segregando as três categorias de fungos, podridão branca, em verde, parda, em cinza, e mole, em roxo.

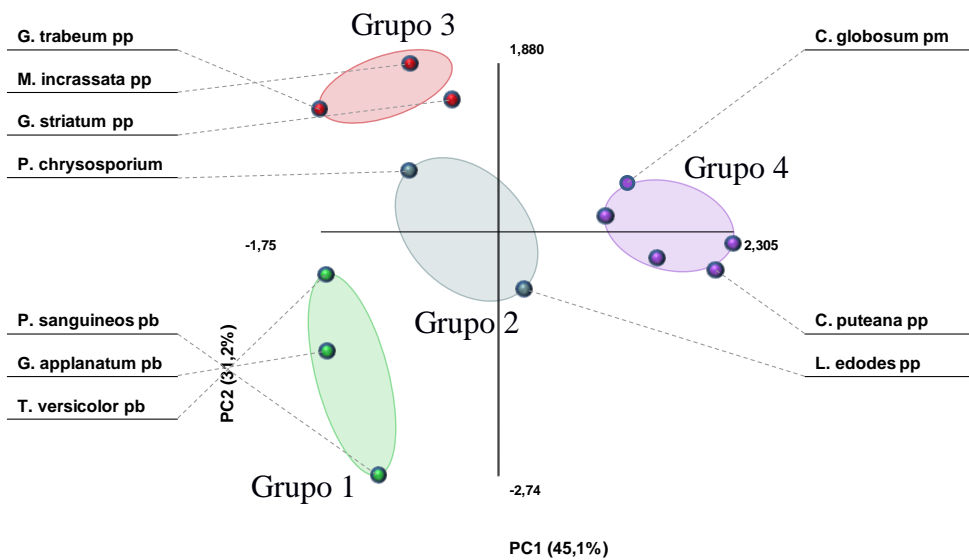


Figura 13 - Gráfico de *scores* entre a PC1 e PC2, com variação total de 76,3%. Segregando os quatro grupos encontrados pelo HCA.

Na Figura 14, gráfico de *loadings* ou de pesos, pode-se observar a contribuição das variáveis na separação dos grupos. Em que as variáveis que influenciaram a separação do terceiro grupo, constituído apenas por fungos de podridão parda, foram o teor de extrativos, acomodando o grupo à esquerda, juntamente com o teor de lignina ácido insolúvel posicionando o grupo na região superior do gráfico. Sendo que a separação do grupo 1, composto apenas por fungos de podridão branca, recebeu maior influência das variáveis teor de lignina ácido solúvel e o teor de cinzas à 525°C.

O grupo 4, representado por fungos de todas as classes estudadas, recebeu grande influência da lignina ácido insolúvel acomodando-o à direita, no entanto, recebeu influência de outra variável para se manter em posição mediana no gráfico. Assim, o PC1 foi responsável pela separação do grupo 4, posicionado à esquerda, dos demais grupos.

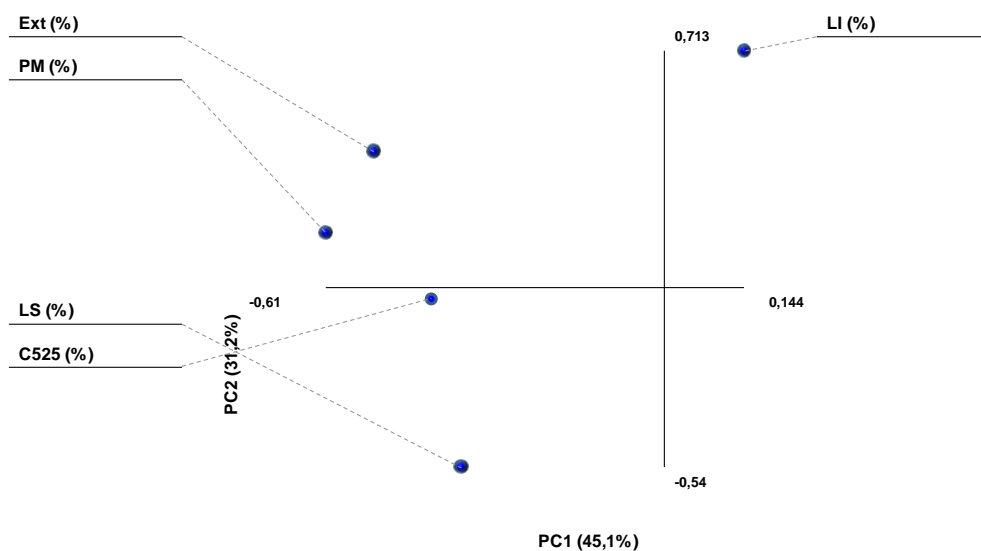


Figura 14 - Gráfico de *loadings* (peso) das variáveis entre o PC1 e o PC2. PM (%): perda de massa; EXT (%): teor de extrativos; LI (%): teor de lignina ácida insolúvel; LS (%): teor de lignina ácida solúvel; C525 (%): teor de cinzas à 525°C.

6. CONCLUSÕES

Para a maioria dos fungos, a perda de massa sofrida pelos corpos de prova da *Castilla ulei*, com exceção para *Lentinus lepideus*, *Meruliporia incrassata* e *Pycnoporus sanguineus*, foi superior a perda de massa sofrida pelas espécies controles utilizadas, *Pinus spp.* e *Cecropia spp.* Podendo ser indicada como uma espécie a ser utilizada como controle, para avaliar o vigor dos fungos.

O potencial de ataque variou entre os treze fungos estudados, fazendo com que a espécie de madeira estudada, *Castilla ulei*, apresente-se comportamentos distintos em termos de valores de perda de massa frente ao ataque das diferentes espécies de fungos apodrecedores. Assim, em termos de perda de massa, o *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, e o *Gloeophyllum trabeum* foram os fungos mais agressivos a madeira, apresentando maior poder de deterioração.

Através da análise de HCA, utilizando a perda de massa, juntamente com as variáveis químicas, foi possível identificar quatro grupos distintos. O fungo de podridão branca *Trametes versicolor*, juntamente com *Ganoderma applanatum* e *Pycnoporus sanguineus*, formaram o grupo 1. O *Gloeophyllum trabeum*, *Gloeophyllum striatum* e *Meruliporia incrassata*, se reuniram num outro grupo só de podridão parda, grupo número 3.

O estudo indicou, pelas análises de PCA e HCA, quatro espécies de fungos supracitadas que poderiam ser utilizadas em substituição ao *Gloeophyllum trabeum* e *Trametes versicolor* comumente utilizados.

No presente estudo foram utilizados apenas parâmetros de composição química da madeira antes e pós ataque e a perda de massa. Adicionalmente, inserindo outras variáveis como importância econômica, ocorrência, colorimetria, dentre outros, outras análises podem ser realizadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS – ASTM D-2017. Standard method for accelerated laboratory test of natural decay resistance for woods. **Annual Book of ASTM Standards**, Philadelphia, v.0410, p.5, 2005.

BLANCHETTE, R. A. Unusual decay pattern in brown-rotted wood. *Mycologia*, v.75, p.552-556. 1983.

BRAZOLIN, S. Biodeterioração e preservação da madeira. In: OLIVEIRA, T.S.; FIEDLER, N.C. NOGUEIRA, M. *Tecnologias aplicadas ao setor madeireiro*, Jerônimo Monteiro: UFES, p.343-365. 2007.

PIO CORRÊA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Vol. II. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Rio de Janeiro - RJ, p. 154-155, 1984

CORREIA, P. R.M. e FERREIRA, M. M.C. Reconhecimento de padrões por métodos não-supervisionados explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. *Quím. Nova*. 2, Vol. 30, pp. 481-487, 2007.

COSTA A. F.; TELES, R. F.; GONÇALVES, J. C. Análise Visual e com Ondas de Tensão em Moirões Instalados em Campo de Apodrecimento Após 15 anos. 1o. Congresso Ibero-Latinoamericano da Madeira na Construção - CIMAD 11. Coimbra – Portugal, 2011.

COSTA, M. A. Avaliação de Metodologias Alternativas para Caracterização do Ataque de Fungos Apodrecedores de Madeira. Dissertação de Mestrado (Ciência Florestal). Universidade de Brasília, Brasília. 83 f. 2009.

CURLING, S.; JERROLD, E.; WINANDY, C.A. *An experimental method to simulate incipient decay of wood by basidiomycete fungi*. In: The International Research Group on Wood Preservation; Section 2, Test methodology and assessment; IRG/WP 00-20200, 31., 2000, Kona, USA. Proceedings... Kona: IRG, 13p. 2000.

EATON, R. A.; HALE, M. D. C. *Wood: decay, pests and protection*. Cambridge: Chapman & Hall. 541p. 1993.

EN 350-1 (1994a): Durability of wood and wood-based products - Natural durability of solid wood - Part 1: Guide to the principles of testing and classification of the natural durability of wood. CEN (European committee for standardization), Brussels

FENGEL, D.; WEGENER, G. *Wood, Chemistry, Ultrastructure and Reactions*. Walter De Gruyter. Berlin. p.373-406. 1984.

FINDLAY, W. P. K. *The nature and durability of wood*. In: FINDLAY, W. P. K. (Ed.). *Preservation of timber in the tropics*. Dordrecht: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, p. 1-13. 1985.

GREEN, F.; HIGHLEY, T. L. *Mechanism of Brown-Rot Decay: Paradigm or Paradox*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.39, p.113–124. 1997.

HIGHLEY, T. L.; MURMANIS, L. L.; PALMER, J. G. *Micromorphology of degradation in western hemlock and sweetgum by the brown-rot fungus Poria placenta*. *Holzforschung*, v.39, p.73-78. 1985.

INSTITUTO DE PESQUISA TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO. IPT. *Manual de Preservação de Madeiras*. Vol. II. São Paulo, 1986.

KLOCK, U.; MUNIZ, G. I. B.; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. *Química da Madeira*. 3ª ed. Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2005.

KOLLMANN, F. E. P.; CÔTE JUNIOR, W. A. **Principles of wood science and technology**. Springer-Verlag, 592 p., New York. 1968.

LELLES, J. G.; REZENDE, J. L. P. *Considerações gerais sobre tratamento preservativo da madeira de eucalipto*. *Informe Agropecuário*, v. 12, n. 141, p. 83-90. 1986.

LELIS, A. T.; BRAZOLIN, S.; FERNANDES, J. L. G.; LOPEZ, G. A. C.; MONTEIRO, M. B. B.; ZENID, G. J. *Biodeterioração de madeiras em edificações*. Instituto de Pesquisas Tecnológicas, São Paulo, 54p. 2001.

MENDES, A. S.; ALVES, M. V. S.. *A deterioração da madeira e sua preservação*. Brasília: IBDF, 57p. 1988

- MENDES, R. F.; JÚNIOR, G. B.; GARLET, A.; VIDAL, J. M.; ALMEIDA, N. F.; JANKOWSKY, I. P. Resistência de painéis compensados de *Pinus Taeda* tratados com preservantes ao ataque de fungos xilófagos. *Cerne*, n. 1, Vol. 20, p. 105-112, Lavras. 2014.
- MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. *Análise da Madeira de Pinus oocarpa Parte I – Estudo dos Constituintes Macromoleculares e Extrativos Voláteis*. Revista *Árvore*, v. 29, n. 3, p. 461-470. Viçosa – MG. 2005.
- MORESCHI, J. C. *Biodegradação da madeira*. Curitiba: UFPR. 38p. 1980.
- MORESCHI, J. C. *Biodeterioração da Madeira*. UFPR. Manual Didático. 43p. 2005.
- MOURA, M. C. S.; LOPES, A. N. C.; MOITA, G. C.; NETO, J. M. M. Estudo multivariado de solos urbanos da cidade de Teresina. *Quím. Nova* 3, Vol. 29, pp. 429-435, 2006.
- NATIONAL RENEWABLE ENERGY LABORATORY. **Chemical analysis and testing task**: laboratory analytical procedure: NREL LAP-003 e NREL LAP-004. Golden, 1996.
- NETO, J. M. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. *Quím. Nova* .4, Vol. 21, pp 467 – 469, 1998.
- NUMERICALDYNAMICA.COM. 2015. Multibase2015. 2015.
- OLIVEIRA, J. T. S.; SOUZA, L. C.; LUCIA, R. M. D.; JÚNIOR, W. P. S. *Influência dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira*. R. *Árvore*, Viçosa-MG, v.29, n.5, p.819-826. 2005.
- PAES, J.B. **Resistência natural de madeira de *Corymbia maculata* (Hook.) K.D. HILL & L.A.S.Johnson a fungos e cupins xilófagos, em condições de laboratório**. Rev. *Árvore*, Viçosa (MG), v.26, n.6, 9.761-767, 2002.
- PANERO, F. S. VIEIRA, M. F. P; CRUZ, A. M. F.; MOURA, M. F. V. Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. *Orbital the eletrônic Journal of Chemistry*. 1, Vol. 3, pp. 228-237. 2009.
- SANTINI, E. J. *Biodeterioração e preservação da madeira*. Santa Maria: UFSM/CEPEF/FATEC. 125p. 1988

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

SEABRIGHT, D. *Eating away at the woodwork*. Asian Timber, v.14, n.3, p.46-47. 1995.

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. 132f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Estrutural) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

SILVA, R. F. Diagnóstico das espécies mais utilizadas e alternativas para utilização nas serrarias localizadas na regional do Baixo Acre. Dissertação de Mestrado (Ecologia e Manejo de Recursos Naturais), Universidade Federal do Acre, Rio Branco. 108 f. 2002.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: Um tutorial, Parte I. *Quím. Nova*. 1, 2012, Vol. 35, pp. 223-229. 2012

SOUZA, G. S. Avaliação da bacia hidrográfica do Rio Paraguaçu utilizando análise multivariada. Dissertação de Mestrado. Salvador - BA : UFBA, 2010.

STANGERLIN, D. M.; COSTA, A. F.; GANÇALVEZ, J. C.; PASTORE, T. C. M.; GARLET, A. Monitoramento da Biodeterioração da Madeira de Três Espécies Amazônicas pela Técnica da Colorimetria. *Acta Amazonica*, v.43, n.4, p.429-438, 2013

TECHNICAL ASSOCIATION OF THE PULP AND PAPER INDUSTRY. **Preparation of wood for chemical analysis**: T264 OM-88. Atlanta, 3p., 1996.

TEXEIRA, D. E.; COSTA, A. F.; SANTANA, M. A. E. *Aglomerado de bagaço de cana-de-açúcar: resistência natural aos apodrecedores*. *Scientia Florestalis*, Piracicaba, n.52, p.29-34. 1997.

VIVIAN, M. A.; SANTINI, E. J.; MODES, K. S.; GARLET, A.; MORAIS, W. W. C. Resistência biológica da madeira tratada de *Eucalyptus grandis* e *Eucalyptus cloeziana* a fungos apodrecedores em ensaios de laboratório. **Ciência Florestal**, n. 1, vol. 25, p. 175-183. Santa Maria. 2015.

WILLEITNER, H. *Laboratory tests on the natural durability of timber-methods and problems*. Stockholm: The International Research Group on Wood Preservation. 11 p. (Doc. IRG/WP/2217). 1984.

ZABEL, R. A.; MORRELL, J. J. *Wood Microbiology: Decay and its Prevention*. Academic Press, California, 476p. 1992.