

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE ENGENHARIA FLORESTAL  
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

SUELEN PIETROBON FACCHI

**POTENCIAL DA QUITOSANA, N,N,N-TRIMETILQUITOSANA E  
METABÓLITO DE *Ganoderma lucidum* SOBRE NA  
BIODETERIORAÇÃO DA MADEIRA DE *Pinus* sp.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS

2015

**SUELEN PIETROBON FACCHI**

**POTENCIAL DA QUITOSANA, N,N,N-TRIMETILQUITOSANA E  
METABÓLITO DE *Ganoderma lucidum* SOBRE A BIODETERIORAÇÃO  
DA MADEIRA DE *Pinus* sp.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso  
II, do Curso de Bacharelado em Engenharia  
Florestal da Universidade Tecnológica Federal  
do Paraná – UTFPR, como requisito parcial  
para obtenção do título de Engenheira  
Florestal.

Orientadora: Profa. Dra. Flávia Alves Pereira  
Coorientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco  
Martins

DOIS VIZINHOS

2015

F137p Facchi, Suelen Pietrobon.  
Potencial da Quitosana, n,n,n-trimetilquitosana e metabólito de *Ganoderma lucidum* sobre a biodeterioração da madeira de *Pinus sp.* / Suelen Pietrobon Facchi – Dois Vizinhos: [s.n], 2015.  
40f.:il.

Orientadora: Flávia Alves Pereira  
Co-orientador: Alessandro Francisco Martins  
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso de Engenharia Florestal. Dois Vizinhos, 2015.  
Bibliografia p.37-40

1.Biodegradação de madeira. 2.Durabilidade da Madeira. I.Pereira, Flávia Alves, orient. II.Martins, Alessandro Francisco, co-orient. III.Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos.  
VI.Título

CDD: 634.9

Ficha catalográfica elaborada por Keli Rodrigues do Amaral CRB: 9/1559

Biblioteca da UTFPR-Dois Vizinhos



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

### **EFEITO PRESERVATIVO DA QUITOSANA, N,N,N-TRIMETILQUITOSANA E METABÓLITO DE *Ganoderma lucidum* NA BIODETERIORAÇÃO DA MADEIRA DE *Pinus* sp.**

por  
Suelen Pietrobon Facchi

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 26 de Novembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. A candidata foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Prof. Dr. Flávia Alves Pereira

Orientador(a)

---

Prof. Dr. Marcos Aurélio Mathias de Souza

Membro titular (UTFPR)

---

Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro

Membro titular (UTFPR)

Dedico...

A Deus, por ser a essência da minha vida, aos meus pais Nelson e Sueli e ao meu esposo, que de forma especial e carinhosa me deram forças e coragem.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitária mas que, em todos os momentos, é o maior mestre que alguém pode conhecer. A ele toda honra e toda glória para sempre.

Aos meus pais, que muitas vezes desistiram dos seus sonhos pelos meus sonhos. Obrigada por todo carinho e apoio, por não medirem esforços para que eu chegasse até esta nova etapa de minha vida.

Ao meu esposo Alessandro, que adentrou em minha vida e me fez crescer como pessoa, com quem estou amado partilhar a vida. Com você tenho me sentido mais completa e viva. Obrigado pelo carinho, paciência e por me trazer paz na correria da vida.

Aos meus irmãos, pelo incentivo e apoio, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

À minha orientadora Prof<sup>ra</sup>. Dra. Flavia Alves Pereira pela paciência, dedicação, incentivo e sabedoria que muito me auxiliou para conclusão deste Trabalho de Conclusão de Curso. Além disso, agradeço pela disponibilidade de tempo, sempre com uma simpatia contagiante, pelo respeito e amizade. Sempre a Levarei em meu coração.

A todos os professores do curso, que foram pessoas tão importantes na minha vida. Agradeço a todos por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade no processo profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender.

Particularmente aos professores Marcos Aurélio Mathias, Sergio Miguel Mazaro e Ramiro Faria França pela imensa ajuda na construção do presente estudo. Os quais tenho o imenso respeito, Deus os abençoe.

As alunas Jéssica da Mata, Luana dos Santos e Mycheli Preuss da Cruz por serem pessoas essenciais na elaboração da parte experimental do presente trabalho, sempre prestativas e dedicadas. Muito obrigada!

Aos meus amigos e colegas, pelos incentivos, pelo apoio, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhas.

Meus sinceros agradecimentos!

*“No início faça o imprescindível,  
depois, o possível  
e, de repente estará fazendo o impossível”.*

***São Francisco de Assis.***

## RESUMO

FACCHI, Suelen Pietrobon. **Potencial da da quitosana, n,n,n-trimetilquitosana e metabólito de *Ganoderma lucidum* sobre a biodeterioração da madeira de *Pinus* sp.** 2015. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Florestal) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência da madeira de *Pinus* sp., ao agente causador da podridão branca, tratando-a com o metabólito de *Ganoderma lucidum* (*in vitro*) e, também, a partir da submersão de amostras das madeiras, em soluções poliméricas de quitosana (QT) e N,N,N-trimetilquitosana (TMC), de acordo com norma D 2017 (ASTM, 2005). Foram avaliados dois métodos de tratamento das amostras de *Pinus* sp, sendo com metabólito *Ganoderma lucidum* e com soluções dos polímeros QT e TMC. No primeiro método, as amostras de madeira, previamente tratadas com metabólito *Ganoderma lucidum* (*G. lucidum*), foram colocadas sobre lâminas alimentadoras, infectadas pelo fungo *Trametes versicolor* (*T. versicolor*). Este estudo foi realizado com 10 repetições e, para efeito de comparação, outras 10 amostras foram depositadas sobre lâminas alimentadoras sem a presença do metabólito (amostras controle). O segundo método de tratamento foi realizado a partir da submersão de amostras de madeira sobre soluções dos polímeros QT e TMC, no qual realizou-se com 10 repetições para a QT e 10 repetições para TMC. Ambos os tratamentos foram realizados em um delineamento experimental casualizado. Para a análise por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foram utilizados três amostras do material tratado apenas com a TMC. O metabólito de *G. lucidum*, a QT e a TMC, conferiram menores perdas de massa às madeiras de *Pinus* sp. tratadas e, com isso, maior resistência à degradação causada pelo fungo de podridão branca.

**Palavras-chave:** Durabilidade natural. Podridão branca. Biodegradação de madeira.



## ABSTRACT

FACCHI, Suelen Pietrobon. **The potential of chitosan, n, n, n-trimetilquitosana and metabolite *Ganoderma lucidum* on the biodeterioration of *Pinus* sp.** 2015. 40 f. Completion of course work (Undergraduate degree in Forest Engineering) - Federal Technology of University Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

The objective of this study was to evaluate the wood resistance of *Pinus* sp., The causative agent of white rot, treating it with the metabolite of *Ganoderma lucidum* (*in vitro*) and also from the woods samples immersed in solutions Chitosan polymer (QT) and N, N, N-trimetilquitosana (TMC), according to standard D 2017 (ASTM, 2005). We evaluated two methods of processing the samples of *Pinus* sp, and with metabolite *Ganoderma lucidum* and solutions of QT and TMC polymers. In the first method, the wood samples previously treated with *Ganoderma lucidum* metabolite (*G. lucidum*) were placed on feeder blades, infected by fungus *Trametes versicolor* (*T. versicolor*). This study was performed in 10 replicates and, for comparison, other samples 10 were deposited on the feeder blades without the presence of metabolite (control samples). The second method of treatment was carried out from the submergence of wood samples on solutions of QT and TMC polymers, which took place with 10 repetitions for QT and 10 repetitions for TMC, both treatments were performed in a randomized design . For the analysis by Scanning Electron Microscopy (SEM), three samples were used material treated only with TMC. In general, the metabolite of *G. lucidum*, chitosan and the TMC had a positive response in the control of white rot with the species *Pinus* sp., And treatment with TMC allowed a smaller mass loss of the test body , showing that the TMC was more efficient compared to chitosan and metabolite *G. lucidum*.

**Keywords:** Natural durability. White rot. Biodegradation timber.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Unidades monossacarídicas repetitivas da Quitosana (QT).....	18
Figura 2 - Unidades monossacarídicas repetitivas da N,N,N-trimetilquitosana.....	19
Figura 3 - Dimensões dos Corpos de prova com 2,5 x 2,5 x 0,90 cm (A), Dimensões dos Corpos de prova com 0,5 x 0,5 x 0,3 cm (B).....	21
Figura 4 - Lâmina Alimentadora de <i>Pinus</i> sp. (A), Lâmina Alimentadora com o fungo desenvolvido (B).....	24
Figura 5 - Amostra de <i>Pinus</i> sp. tratada com o metabólito <i>G. lucidum</i> e acondicionada sobre a fonte alimentadora infectada pelo fungo <i>T. versicolor</i> .....	25
Figura 6 - Remoção do micélio do corpo de prova (A), Corpo de prova livre do micélio (B)	25
Figura 7 - TMC sólida (A), preparação da solução de TMC (B) .....	27
Figura 8—Submersão do corpo de prova na solução de TMC previamente obtida.....	27
Fotografia 9 - Amostras de <i>Pinus</i> sp. (com dimensões de 0,5 x 0,5 x 0,3) ates do tratamento (A) e após o tratamento com a TMC (B), após 11 dias de incubação à 27±2 °C.....	32
Figura 10 - Imagens de MEV das amostras testemunha (A), amostras infectadas pelo fungo <i>T. versicolor</i> (B) e amostras tratadas com TMC. As imagens de MEV foram processadas após 6 meses de incubação à 27±2 °C sobre a lâmina alimentadora.....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classes de resistência a fungos xilófagos estabelecidos pela norma D 2017 (ASTM, 2005).....	25
Tabela 2- Comparações múltiplas da perda de massa, para diferentes tipos de tratamentos contra a degradação da madeira causada pelo fungo <i>Trametes versicolor</i> .....	28
Tabela 3 - Classificação da madeira tratada quanto à resistência ao ataque do fungo, de acordo com a norma D 2017 (ASTM, 2005).....	34

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>15</b>
3.1. DESCRIÇÃO DO GÊNERO .....	15
3.2. PRESERVAÇÃO DA MADEIRA.....	16
3.2.1 <i>Ganoderma lucidum</i> .....	17
3.2.2 Quitosana (QT) e N,N,N-trimetilquitosana (TMC) .....	18
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
4.1. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO .....	20
4.2. METODOLOGIA EMPREGADA .....	20
4.2.1. Obtenção dos corpos de prova .....	20
4.2.2. Obtenção dos isolados de <i>Ganoderma lucidum</i> e <i>Trametes versicolor</i> .....	21
4.2.3. Obtenção do Metabólito de <i>Ganoderma lucidum</i> .....	21
4.2.4. Obtenção dos polímeros quitosana (QT) e N,N,N-trimetilquitosana (TMC).....	22
4.2.5. Tratamento da madeira de <i>Pinus</i> sp. com o metabólito <i>G. lucidum</i> . .....	22
4.2.6. Tratamento da madeira de <i>Pinus</i> sp. com os polímeros quitosana e N,N,N-trimetilquitosana .....	26
4.2.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	27
4.2.8. Determinação das propriedades físicas da madeira.....	28
4.2.9. Delineamento experimental.....	28
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>29</b>
5.1 TRATAMENTO COM METABÓLITO <i>G. LUCIDUM</i> .....	29
5.2 TRATAMENTO DA MADEIRA DE <i>PINUS</i> SP. COM OS POLÍMEROS QUITOSANA (QT) E N,N,N-TRIMETILQUITOSANA (TMC) .....	30
5.3 CLASSIFICAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO ATAQUE DO FUNGO .....	34
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A exigência por madeiras de qualidade e que satisfaçam a demanda do mercado é crescente. Assim, o setor florestal vem se adaptando de forma que as propriedades físicas, estéticas, mecânicas e a durabilidade natural sejam atendidas, aumentando a gama de utilizações e conquistando diferentes consumidores.

Com isso, a madeira do gênero *Pinus* vem sendo cada vez mais melhorada, ampliando o leque do seu uso. Por ser uma planta exótica, apresenta boa adaptação em diversas regiões brasileiras, contudo, apresenta baixa durabilidade natural, sendo susceptível ao ataque de agentes biodeterioradores, como por exemplo os fungos.

Os fungos são patógenos que causam grandes danos à madeira, podendo prejudicar o aspecto visual da mesma, danificar a estrutura do material lenhoso, reduzir sua resistência mecânica, deixando-a vulnerável ao ataque de outros patógenos. A umidade favorece a ação desses agentes, aumentando a taxa de biodegradação, assim como o contato direto com o solo.

O ataque dos fungos deterioradores podem causar sérias injúrias sobre a madeira, como manchas e sua decomposição. Estes efeitos desencadeiam prejuízos econômicos consideráveis no setor florestal e sua utilização se torna importante para o aumento da sua durabilidade natural e, assim, ampliar o seu tempo de vida útil. No entanto, os preservativos disponíveis no mercado podem ser agressivos ao solo, fauna, flora e ao lençol freático. Assim, é importante que novas técnicas e produtos sejam pesquisados visando eficiência no tratamento e baixa toxicidade ao meio ambiente.

O controle dos agentes biodeterioradores através de preservantes naturais ocasiona a valorização da madeira no momento da aquisição, uma vez que o procedimento pode diminuir ou anular seu efeito maléfico sobre o meio ambiente. Estes tratamentos podem melhorar a qualidade da madeira, tornando-a um material durável (VIVIAN, 2011).

Visando aumentar a vida útil destas madeiras, este estudo objetiva pesquisar novos produtos preservantes, eficientes, capazes de suprir a demanda do mercado e com baixo impacto ambiental.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a resistência da madeira de *Pinus* sp. tratada com metabólito de *Ganoderma lucidum*, quitosana (QT) e o N,N,N-trimetilquitosana (TMC), em condições *in vitro* e *in vivo*, após o ataque do agente causador da podridão branca, *Trametes versicolor*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinação da perda de massa da madeira de *Pinus* sp. tratada com o metabólito de *G. lucidum*, após o ataque do fungo *Trametes versicolor*;
- Determinação da perda de massa da madeira de *Pinus* sp. tratada com os polímeros quitosana e N,N,N-trimetilquitosana após o ataque do fungo *Trametes versicolor*;
- Avaliar se o metabólito *G. lucidum* e os polímeros quitosana e N,N,N-trimetilquitosana apresentam potencial para proteger a madeira de *Pinus* sp. contra o ataque do fungo causador da podridão branca.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. DESCRIÇÃO DO GÊNERO *Pinus*

Introduzida no Brasil, na década de 40, o *Pinus* sp, ocorreu inicialmente na América do Norte, proveniente não só dos Estados Unidos mas também do México, da América Central, das ilhas caribenhas e da Ásia (SHIMIZU & HIGA, 1981). De acordo com Hocker & Harold (1956) o *Pinus* se adapta a condições climáticas com característica de temperatura média, com intensidade média de precipitações no inverno e verão, fato este que propiciando sua ocorrência natural (LORENZI, 2003).

No Brasil, o *Pinus* ocorre em várias regiões, destacando-se o sul do país, o qual se destaca pela facilidade nos tratamentos culturais, rápido crescimento e reprodução intensa (SHIMIZU & HIGA, 1981).

O *Pinus* sp., pertence a família Pinaceae, do grupo das gimnospermas, apresentando rápido crescimento (CÉZAR, 2011). Além disso, apresenta um tronco reto de geometria cilíndrica e com copa irregular arredondada (KOHLENER, 2013). Possui altura entre 30 a 40 metros quando adulta, apresenta uma casca com característica gretada, ramos acinzentados e acículas curtas de coloração verde-escura, ásperas e eretas (LORENZI, 2003).

Segundo Hasegawa (2003), a madeira de *Pinus*, é de baixa densidade, é uma madeira macia ao corte e possui textura fina. Estas características ocorrem devido ao seu rápido crescimento. O *Pinus* apresenta boa propriedade de trabalhabilidade, podendo ser facilmente desdobrada, desenrolada, lixada, colada, fatos que permitem um bom acabamento (HASSEGAWA, 2003). Apesar disso, segundo Shimizu (2006), devido ao crescimento inicial rápido do *Pinus*, o fuste se torna de baixa qualidade, apresentando tortuosidade, bifurcações e um grande número de ramos grosseiros.

Atualmente, a madeira de *Pinus* é utilizada para diversas finalidades, entre as quais se destaca a construção civil, utilizadas em partes secundárias de estruturas em forma de acabamento, como forros, açoalhos, roda pés, ripas em uso temporário, como fôrmas para concreto e andaimes (LORENZI, 2003). Além disso, a madeira de *Pinus* é bastante empregada no setor mobiliário, em construção de móveis, partes internas de móveis, peças torneadas, aplicando-se também no processo industrial de fabricação de chapas MDF, OSB, compensado, laminados, móveis, construção civil, entre outras (SERPA & VITAL, 2005).

Outra utilidade desse gênero, é a produção de resinas, através da extração de Breu e Terebentina, sendo esta matéria prima para produção de colas, vernizes, tintas e adesivos, entre outras finalidades (FERREIRA, 2001).

Dentre os inúmeros motivos que levam o uso da madeira de *Pinus* nos diversos setores como mencionado acima, é a facilidade de adaptação da espécie e seu rápido crescimento (IWAKIRI et al, 2002).

No entanto, a madeira do *Pinus* apresenta algumas limitações, principalmente em relação à qualidade das lâminas produzidas (Id, 2002). Além disso, possui durabilidade natural baixa, pois se a mesma não for tratada, será suscetível ao ataque de biodeterioradores. Como por exemplo; fungos emboloradores, manchadores e apodrecedores, que diminuem o tempo de aplicação da madeira, desapreciando-a (HASSEGAWA, 2003).

### 3.2. PRESERVAÇÃO DA MADEIRA

Um modo de valorizar a madeira de *Pinus* sp., é através do tratamento da mesma, fazendo-se necessário a utilização de produtos preservantes adequados, tornando a madeira mais resistente ao ataque de agentes degradadores (BARILLARI, 2002).

A madeira de *Pinus* apresenta baixa durabilidade natural, tornando a espécie vulnerável aos ataques de agentes biodeterioradores. A durabilidade natural da madeira é interpretada como a capacidade de resistir a ação dos agentes degradadores, bem como outros agentes, tais como, agentes físicos, químicos e biológicos (GOMES & FERREIRA, 2002). A madeira em contato direto com substâncias químicas tais como ácidos e bases fortes, óxido de ferro, dióxido de enxofre, podem sofrer mudanças químicas, reduzindo suas propriedades físico-mecânicas (MENDES & ALVES, 1988).

No processo de biodegradação, a madeira se degrada por meio de organismos xilófagos, que fazem uso dos constituintes da parede celular da madeira como fonte de nutrição (Id, 2002). Dentre os agentes biológicos que mais causam danos a madeira, estão os fungos e os cupins. Segundo Barillari (2002), os fungos são divididos em dois grandes grupos, os que degradam a parede celular e o grupo que se alimenta de substâncias de reserva, presentes no lume celular. Esses agentes biodeterioradores, podem manchar ou decompor a madeira, causando prejuízos econômicos (BARILLARI, 2002).



Os fungos responsáveis pela degradação enzimática das paredes celulares, ou seja, os que causam o apodrecimento da madeira são divididos em: fungos de podridão branca, fungos de podridão mole e fungos de podridão parda. Estes fungos pertencem a classe dos ascomicetos e basidiomicetos (Id, 2002).

Entre os fungos de importância em madeira de *Pinus* sp. encontra-se o *Trametes versicolor*, agente causador de grandes danos na madeira (BRAND, 2006).

Eaton (1993), afirmou que a vulnerabilidade da madeira ao ataque de fungos, ocorre quando a mesma se encontra com umidade acima ou igual a 20%. Segundo Alexopoulos (1996), se a madeira estiver isenta de umidade e, ainda tratada por produtos preservantes, a madeira sofrerá apodrecimento lento. Quando a madeira é atacada por fungos, a mesma apresenta diminuição de massa, modificação da coloração e redução da resistência.

De acordo com Wilkinson (1979), o tratamento da madeira com uso de produtos preservantes, devem possuir alguns critérios. Os agentes preservantes devem possuir baixa toxicidade às pessoas, animais e plantas e, ao mesmo tempo ser tóxico aos organismos xilófagos. Além disso, tais substâncias devem ser resistentes ao processo de lixiviação e possuir baixo custo de aquisição.

Os principais produtos preservantes aplicados em madeira em contato direto com o solo, são o creosoto (preservante oleoso), o arsenato de cobre cromatado e o borato de cobre cromatado, sendo estes classificados como hidrossolúveis (BARRILLARI, 2002). Segundo Nicholas (1985), quando a madeira entra em contato direto com o solo, a mesma irá se deteriorar mais rapidamente, quando comparada a madeira fora do solo. No entanto, os produtos preservantes não são lixiviáveis e a grande maioria destas substâncias apresentam níveis de toxicidade (NICHOLAS, 1985).

Atualmente, são conhecidos vários métodos de preservação de madeira, tais como preservação natural, indireta, biológica e química. A preservação biológica envolve a utilização de organismos vivos, os quais irão competir naturalmente com os organismos xilófagos, que causam a biodeterioração da madeira (BARRILLARI, 2002).

### 3.2.1 *Ganoderma lucidum*

Segundo Rubel (2006), o *Ganoderma lucidum* (*G. lucidum*), conhecido popularmente como Cogumelo Rei foi utilizado primeiramente como material medicinal pelos povos orientais, por possuir atividade antitumoral, imunomoduladora, hipotensiva, hipoglicêmica, entre outras. Este pertence à família Ganodermataceae do filo basidiomycota,

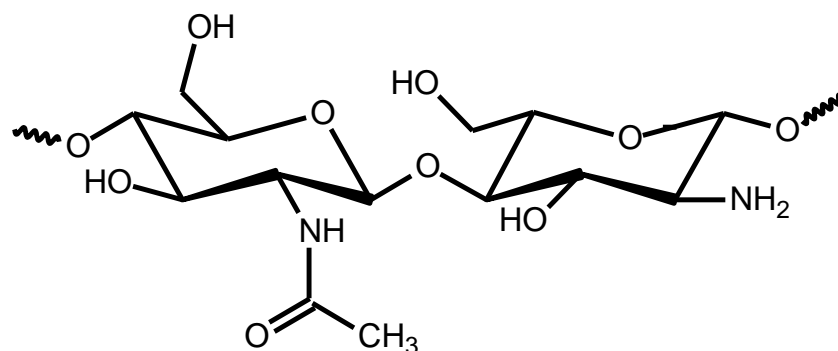
sendo uma espécie nativa do continente oriental, mais precisamente dos Japão e China (Id, 2006).

O *G. lucidum*, é um fungo que tem poder competitivo por substrato, tornando-se predominante entre outras espécies de fungos, sendo assim, poderá se tornar um agente alternativo de preservação natural da madeira de *Pinus* sp (GODOY, 2008).

Assim, o metabólito *G. lucidum* poderá ser capaz de preservar madeiras contra ataques de outros fungos, tais como o *T. versicolor*. O *G. lucidum* poderá propiciar um controle alternativo para proteger amostras de madeiras, atuando contra o processo de biodeterioração da madeira. Neste caso, se o metabólito *G. lucidum* atuar como agente preservante, este possibilitará o surgimento de algumas vantagens. As vantagens ocorrerão, uma vez, que o metabólito *G. lucidum* não é inflamável, não é volátil, não apresenta odor, sendo inofensivo aos seres vivos, por possui baixa toxicidade (OLIVEIRA, 2005).

### 3.2.2 Quitosana (QT) e N,N,N-trimetilquitosana (TMC)

A quitosana (QT) é um polissacarídeo de baixa citotoxicidade obtido a partir do processo de desacetilação da quitina (MARTINS, 2012). A estrutura da QT é formada pela repetição de unidades  $\beta(1\rightarrow4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glicose ou (D-glucosamina) apresentando uma cadeia polimérica similar à da celulose, exceto pela substituição dos grupos hidroxila na posição C2 por grupos acetamida e amino (Fig. 1) (Id, 2012).



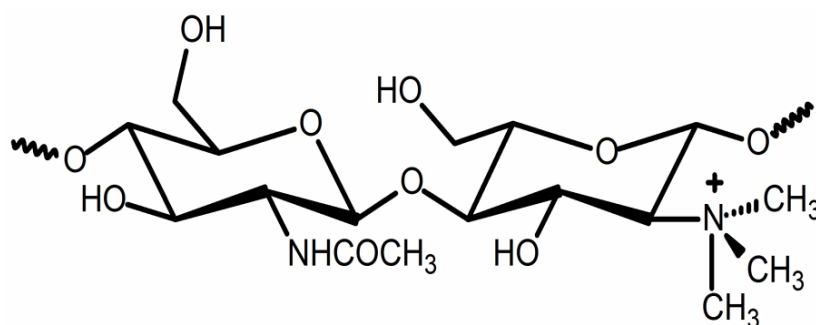
**Figura 1** - Unidades monossacarídicas repetitivas da Quitosana (QT).  
**Fonte:** Martins, et al., (2013)

A QT apresenta excelentes propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividade microbiana e atividade fungicida (Id, 2012).

Nos últimos anos, materiais a base de QT tem recebido atenção especial, devido as suas excelentes propriedades já citadas e grande espectro de aplicações na área farmacêutica e médica (MARTINS, 2011). No entanto, a limitação de solubilidade da QT em meio neutro e alcalino restringe algumas aplicações deste polímero, uma vez que a sua atividade bactericida e fungicida ocorre quando a QT encontra-se em meio aquoso (MARTINS, 2014).

No estado sólido ou em meio neutro e alcalino a QT não apresenta atividade contra fungos e bactérias, devido à sua baixa solubilidade em água. Por outro lado, a N,N,N-trimetilquitosana (TMC) é um derivado da QT que apresenta o átomo de nitrogênio do grupo amino quaternizado (Fig. 2).

O processo de quaternização da QT pode viabilizar uma maior associação com moléculas de água, aumentando a solubilidade do derivado TMC em água e potencializando a sua atividade microbiana e fungicida em meio neutro e alcalino (MARTINS, 2015). A TMC possui melhor atividade fungicida e bactericida em relação a QT devido ao processo de quaternização.



**Figura 2** - Unidades monossacarídicas repetitivas da N,N,N-trimetilquitosana

**Fonte:** Martins, et al., (2014).

De acordo com Martins (2014), quando a TMC apresenta forte atividade bactericida e fungicida. O mecanismo exato de ação da QT e da TMC ainda é desconhecido, mas diferentes propostas têm sido sugeridas. A interação entre espécies positivamente carregadas (QT ou TMC) com o envelope celular carregado negativamente dos microorganismos possibilita a ruptura da membrana celular destes, levando ao escoamento de componentes proteicos e outros constituintes intracelulares. Este processo causa a morte do microorganismo (MARTINS, 2014).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Tecnologia da Madeira, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada no município de Dois Vizinhos, Sudoeste do estado do Paraná, entre as coordenadas geográficas 25°41' S e 53°06' W, com altitude média de 502 m (IAPAR, 2012).

A classificação climática foi estabelecida segundo Köppen do tipo Cfa (subtropical, sem estação seca, com temperatura média do mês mais frio menor que 18°C e temperatura média do mês mais quente maior que 22°C). Apresenta temperaturas médias anuais entre 19°C e 20°C (MAACK, 1981) com precipitação média anual de 2.044 mm (POSSENTI, 2007).

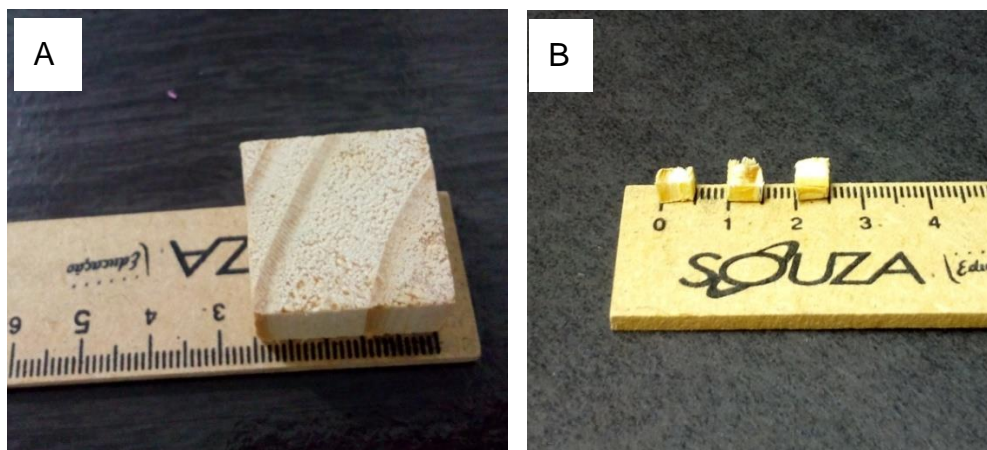
### 4.2. METODOLOGIA EMPREGADA

#### 4.2.1. Obtenção dos corpos de prova

As pranchas de *Pinus* sp. foram obtidas através de doações de empresas da região. O processamento destas foi realizado na marcenaria da UTFPR – *Câmpus* Dois Vizinhos.

As pranchas foram reduzidas a sarrafos com 2,5 cm de espessura, na serra circular, e, posteriormente, reduzidos em corpos de prova com dimensões de 2,5 x 2,5 x 0,90 cm. Para a análise por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), os corpos de prova foram confeccionados com dimensões de 0,5 x 0,5 x 0,3 cm.

Os corpos de prova foram cortados de forma que os anéis de crescimento ficassem tangenciais ao corte (Figura 3). Uma plaina desgrossadeira foi utilizada para padronizar as dimensões radial e tangencial.



**Figura 3** - Dimensões dos corpos de prova com 2,5 x 2,5 x 0,90 cm utilizados para os ensaios de apodrecimento acelerado (A), Dimensões dos Corpos de prova com 0,5 x 0,5 x 0,3 cm (B) utilizados na microscopia eletrônica de varredura.

**Fonte:** A autora (2015).

#### 4.2.2. Obtenção dos isolados de *Ganoderma lucidum* e *Trametes versicolor*

O fungo *Ganoderma lucidum* foi obtido pela EMBRAPA GENERGEN, através de um acordo de Transferência de Material Genético com a UTFPR-Câmpus Dois Vizinhos, já o *Trametes versicolor* foi cedido pela EMBRAPA floresta. Ambos os fungos foram preservado no Laboratório de Fitopatologia da UTFPR-Câmpus Dois Vizinhos. Estes foram repicados e acondicionados em placas de Petri em meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar) e posteriormente armazenado na câmara B.O.D. a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura.

#### 4.2.3. Obtenção do Metabólito de *Ganoderma lucidum*

Os metabólitos foram obtidos em meio líquido BD (Batata e Dextrose), onde discos de micélio de *G. lucidum* foram adicionados ao meio. O meio foi mantido em erlenmeyers em constante agitação sobre mesa agitadora por 60 dias, em temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  na ausência de luz.

Após esse período, o meio foi filtrado, sendo primeiramente em filtro de papel e posteriormente em membrana millipore (0,45  $\mu\text{m}$ ). Esse metabólito líquido foi utilizado no processo do tratamento preservante da madeira.

#### 4.2.4. Obtenção dos polímeros quitosana (QT) e N,N,N-trimetilquitosana (TMC)

A quitosana (QT) com grau de acetilação de 15% e massa molar viscosimétrica de  $87 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$  foi adquirida da Golden-Shell Biochemical (China). N,N,N-trimetilquitosana (TMC) com grau de acetilação de 15% e com grau de quaternização de 50% foi sintetizada em laboratório, por meio da reação de redução da QT. A síntese da TMC, derivado quaternizado da QT encontra-se detalhada nos trabalhos publicados por Martins (2015).

#### 4.2.5. Tratamento da madeira de *Pinus* sp. com o metabólito *G. lucidum*.

Os corpos de prova foram lixados com lixa d'água e, aqueles que se apresentavam livres de nós e rachaduras, foram classificados e utilizados nos ensaios. Em seguida, foram dispostos em estufa com ventilação forçada à temperatura de 50°C (MELO, 2010) por 72 hs, até atingirem peso constante. Posteriormente, foram colocadas em dessecador para o resfriamento e pesagem. A massa inicial foi determinada em balança analítica, com precisão de 0,001g. Estes valores foram utilizados no cálculo de perda de massa. Os ensaios de apodrecimento acelerado seguiram a metodologia descrita pela norma ASTM D-2017 (1994).

Frascos de vidro com capacidade para 500ml, e com tampa rosqueável foram utilizados. Os vidros receberam 207g de solo por cada frasco, sendo o solo obtido do Horizonte B, coletado na área experimental de cultura anual da UTFPR-DV. Após a coleta, o solo foi isento de matéria orgânica, como raízes, folhas e mastofauna, além disso, os grânulos maiores dos solos também foram removidos.

O solo recebeu a adição de calcário dolomítico (72g) para corrigir o pH para 6,0, pois o mesmo se encontrava com pH 4,80. O pH foi corrigido para estimular o desenvolvimento

do fungo segundo a norma ASTM D-2017 (1994). A umidade do solo foi ajustada à 130% em relação a capacidade de retenção, sendo adicionada 83ml de água destilada em cada frasco. A quantidade de água foi determinada através da equação 1, citada logo abaixo:

$$Q_{H_2O} = [1,30*(A-B)] * [M_{SOLO}/(100+B)] \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

$Q_{H_2O}$ : quantidade de água adicionada em cada frasco (g)

A: capacidade de retenção de água no solo (%)

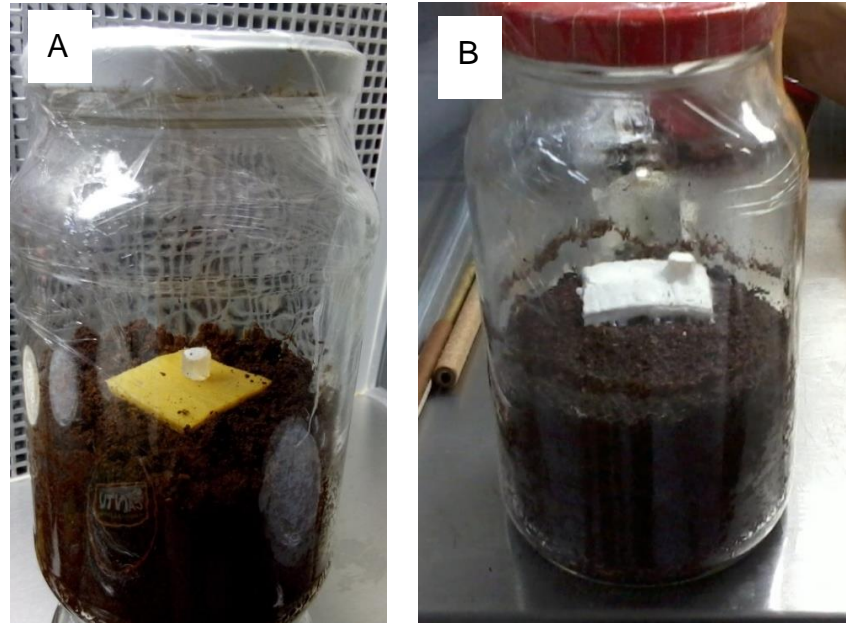
B: teor de umidade do solo seco (%)

$M_{SOLO}$ : massa de solo seco ao ar adicionado em cada frasco (%)

Os fungos de podridão branca (*T. Versicolor*) foram repicados em placas de petri, contendo meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar). Estas foram mantidas em B.O.D. a uma temperatura de  $26 \pm 1^\circ \text{C}$  e  $70 \pm 5\%$  de umidade relativa, até o micélio recobrir a superfície do meio BDA. Este processo durou duas semanas.

Uma lâmina de *Pinus* sp. com dimensões de 0,3 x 3,5 x 2,9 cm, também chamada de fonte alimentadora, foi colocada em cada um dos frascos. Este sistema atuou como fonte e substrato para o crescimento e desenvolvimento do fungo.

Os frascos, contendo o solo e a lâmina alimentadora (sem o fungo), foram esterilizados em autoclave a  $121 \pm 1^\circ \text{C}$  por 45 minutos para evitar a proliferação de contaminantes. Depois de resfriados, cada frasco recebeu um disco do fungo apodrecedor, repicado em câmara de fluxo laminar, com intuito de evitar a contaminação (Figura 4A). Em seguida, foram então incubados em sala climatizada a  $27 \pm 2^\circ \text{C}$  de temperatura e  $70 \pm 4\%$  de umidade relativa, sob fotoperíodo por 45 dias, período suficiente para que os fungos recobrissem completamente as lâminas alimentadoras (Figura 4B).



**Figura 4** - Lâmina alimentadora de *Pinus* sp. (A), Lâmina alimentadora com o fungo desenvolvido (B)  
**Fonte:** A autora (2015).

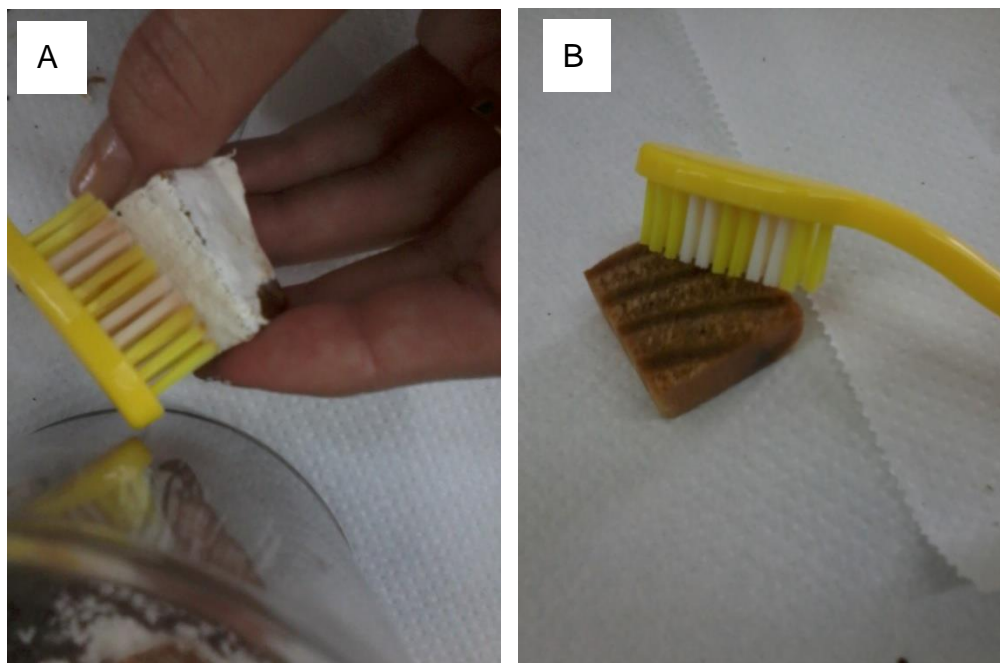
Depois de quarenta e cinco dias, os corpos de prova foram autoclavados a  $121 \pm 1^\circ\text{C}$  por 45 minutos e, depois de resfriados, depositados assepticamente sobre o alimentador contendo o fungo *T. versicolor*. Este procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar. Neste processo, cada corpo de prova foi antes submerso na solução preservante do metabólito *G. lucidum*. A submersão durou em torno de 2 minutos e, após este processo, os corpos de prova foram depositados nos frascos sobre a lâmina alimentadora contendo o fungo (Figura 5). Este procedimento também foi realizado em câmara de fluxo laminar.



**Figura 5** - Amostra de *Pinus* sp. tratada com o metabólito *G. lucidum* e colocada sobre a fonte alimentadora infectada pelo fungo *T. versicolor*.  
**Fonte:** A autora (2015).



O período de incubação foi finalizado após doze semanas na sala climatizada. Os corpos de provas foram removidos dos frascos de vidros e com a utilização de escova com cerdas de náilon macia, removeu-se todo o micélio contido nos corpos de provas (Figura 5).



**Figura 6** - Remoção do micélio do corpo de prova (A), Corpo de prova livre do micélio (B).  
**Fonte:** A autora (2015).

Os corpos de prova foram acondicionados em estufa com ventilação forçada e temperatura de 50°C (MELO, 2010) por 72 horas, até atingir massa constante.

Para determinação da perda de massa foi utilizada a Equação 2.

$$PM (\%) = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

PM: perda de massa dos corpos de prova após os ensaios de apodrecimento (%)

M1: massa inicial dos corpos de prova (g)

M2: massa dos corpos de prova após o fim do ensaio (g).

A perda de massa foi classificada de acordo com a resistência ao ataque dos fungos, segundo os critérios estabelecidos pela norma D 2017 (ASTM, 2005) (Tabela 1).

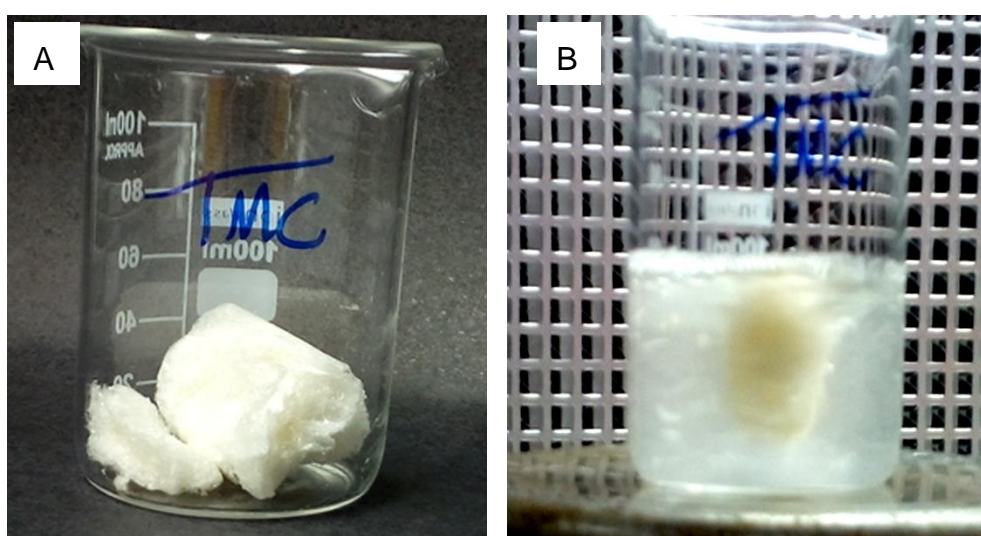
**Tabela 1** – Classes de resistência a fungos xilófagos estabelecidos pela norma D 2017 (ASTM, 2005)

Classe de Resistência	Perda de Massa (%)
Muito resistente	0 – 10
Resistente	11 – 24
Moderadamente resistente	25 – 44
Pouco ou não-resistente	> 45

Fonte: ASTM D 2017 (2005).

#### 4.2.6. Tratamento da madeira de *Pinus* sp. com os polímeros quitosana e N,N,N-trimetilquitosana

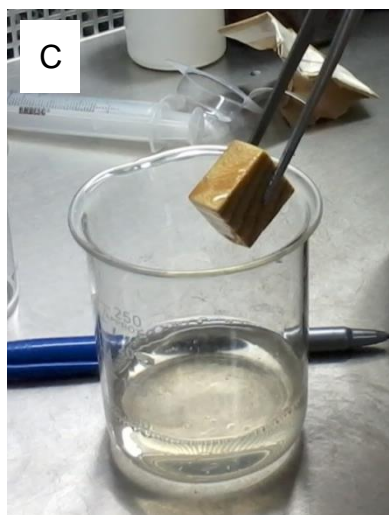
A solução de quitosana (QT) 1% m/v foi preparada em meio ácido, utilizando como solvente uma solução de ácido acético (1% v/v) e a solução de TMC (1% m/v) foi preparada, utilizando-se água destilada como solvente (Figura 7A; 7B). Ambas foram esterilizadas antes de serem utilizadas.



**Figura 7**–TMC sólida (A), preparação da solução de TMC (B) e submersão do corpo de prova na solução de TMC previamente obtida (C).

Fonte: A autora (2015).

Os corpos de provas foram submergidos nas soluções de QT e TMC (Figura 8) em câmara de fluxo laminar e, por fim, as amostras foram acondicionadas sob temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ . Após este processo, os corpos de prova recobertos com o polímero foram colocados em contato com a lâmina alimentadora, a qual estava infectada com o fungo, conforme descrito anteriormente no procedimento experimental da secção 4.2.4.



**Figura 8** – Submersão do corpo de prova na solução de TMC previamente obtida.  
**Fonte:** A autora (2015).

As amostras tratadas com os polímeros foram mantidas em contato com a lâmina alimentadora, assim como descrito no procedimento com o metabólito de *G. lucidum*.

#### 4.2.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras de *Pinus* sp., testemunha, contaminadas com o fungo e tratadas com o polímero TMC ficaram condicionada por seis meses em sala climatizada a  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $70 \pm 4\%$  de umidade relativa.

Os corpos de prova foram fixados com glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,2) a  $4^\circ\text{C}$ . Após fixação, foram lavados com tampão cacodilato de sódio e posteriormente desidratados, utilizando gradiente crescente de etanol, (50, 70, 80, 95, 100, 100%).

Os corpos de prova foram transferidos para cestas permeáveis, o qual foi transferido para o aparelho de ponto crítico, onde foram feitas várias substituições com dióxido de

carbono (CO<sub>2</sub>), e submetidos à secagem usando o método do ponto crítico. O material biológico seco foi colocado sobre os suportes do microscópio eletrônico de varredura, submetidos a metalização com ouro e observados em microscópio eletrônico de varredura, modelo Shimadzu SS-550, na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

#### 4.2.8. Determinação das propriedades físicas da madeira

Após os tratamentos, as propriedades físicas da madeira tais como umidade e massa específica foram determinadas, seguindo os procedimentos descritos na norma NBR-7190.

#### 4.2.9. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, empregando-se 10 repetições para o tratamento com o metabólito de *G. lucidum*, 10 repetições para a QT e 10 repetições para a TMC. Para efeito de comparação, outras 10 amostras foram testadas com madeiras sem os tratamentos preservantes, sendo tratamento testemunha. Para a realização do MEV, os experimentos com as amostras tratadas com os polímeros foram processados em triplicata. As análises foram processadas no software estatístico Assistat®. Os dados foram analisados e a comparação das médias foram processadas por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de perda de massa das amostras de *Pinus* sp. relacionado ao ensaio de apodrecimento acelerado estão expostos na Tabela 2. Observa-se que houve diferença significativa quanto a perda de massa das amostras quando estas foram submetidas aos diferentes agentes de tratamento. A testemunha apresentou perda de massa de 11,92%, o tratamento com Metabólito de *G. lucidum* 4,78%, Quitosana com 4,79% e com o TMC as perdas foram de 2,01%. Entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos preservativos testados.

Os agentes de material poliméricos preservantes utilizados, QT e a TMC, provavelmente, impediram o contato entre a madeira e o fungo, atuando como barreira física, inibindo ou minimizando o contato com a celulose, lignina e hemicelulose. Estes componentes primários são degradados pelos fungos de podridão branca (BARRILLARI, 2002; MENDES & ALVES, 1988; GIMENES, 2010).

**Tabela 2-** Comparações múltiplas da perda de massa, para diferentes tipos de tratamentos contra a degradação da madeira causada pelo fungo *Trametes versicolor*. Dois Vizinhos, 2015

Tratamentos	Perda de Massa (%)
Testemunha	11,92 a
Metabólito de <i>Ganoderma lucidum</i>	4,78 b
Quitosana	4,79 b
TMC <sup>1</sup>	2,01 b

<sup>1</sup> TMC é a sigla de N,N,N-trimetilquitosana.

\*Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Fonte: A autora (2015).

### 5.1 TRATAMENTO COM METABÓLITO *Ganoderma lucidum*

O tratamento da madeira com o metabólito de *G. lucidum* reduziu consideravelmente o teor de massa perdida, quando comparada com a amostra testemunha (Tabela 2). Segundo Borchers (2004), os fungos produzem polissacarídeos da classe  $\beta$ -glucanas que em consorcio com receptores de superfície celular, apresentam grande potencial para controle fúngico. JUNIOR (2006) salienta que o *G. lucidum*, produz grande quantidade de  $\beta$ -glucanas.

Baig (2015) afirma que o metabólito de *G. lucidum*, promoveu a redução significativa da biomassa do fungo *Aspergillus nigeri*, causador do mofo preto em plantas, em até 56%. Além disso, o autor salienta que extratos de *G. lucidum* na presença de metanol mostraram-se mais eficiente para combater patógenos de plantas, em relação a extrato *G. lucidum* preparados em água.

Atualmente, diversos estudo estão se voltando em prol do biocontrole de patógenos em madeiras. Com uma cultura mutante da bactéria *Streptomyces rimosus*, Croan (1997), conseguiu realizar o biocontrole em madeira de *Pinus* sp. contra a biodegradação, no qual obteve sucesso contra os agentes causadores da podridão branca, parda, mole e fungos manchadores e emboloradores.

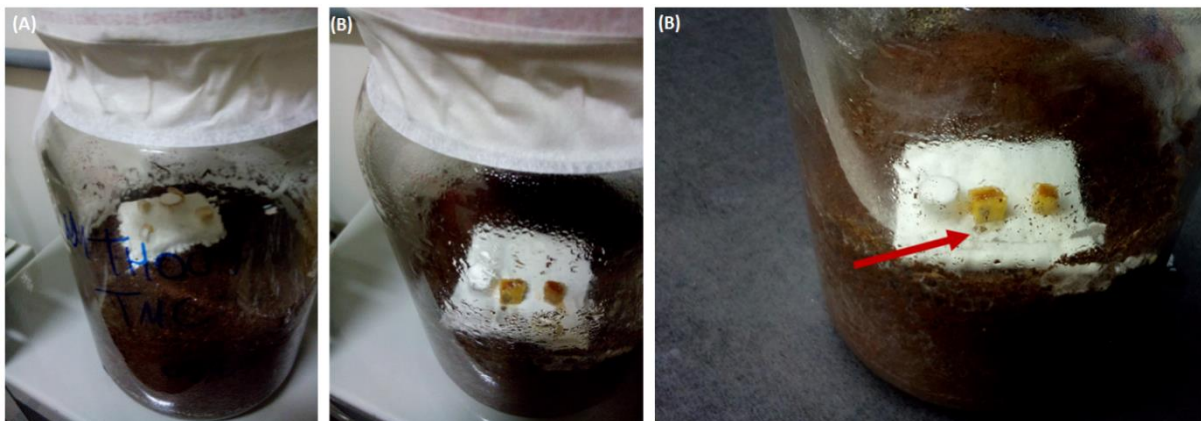
Highley (1995) utilizou o fungo *Trichoderma* do (mofo verde), típico de solo, como agente de preservação de madeira. Esta espécie foi capaz de realizar o biocontrole de agente biodegradadores da madeira, inibindo o desenvolvimento dos fungos de podridão parda, branca, manchadores e emboloradores. Ainda segundo o autor, o *Trichoderma* apresenta um número significativos de agentes antifúngicos, que são compostos orgânicos.

## 5.2 TRATAMENTO DA MADEIRA DE *Pinus* sp. COM OS POLÍMEROS QUITOSANA (QT) E N,N,N-TRIMETILQUITOSANA (TMC)

A perda de massa das amostras tratadas com QT foi menor quando comparada à testemunha e, com isso, pode-se afirmar que o tratamento foi eficaz para proteger a madeira da degradação causada pelo fungo de podridão branca. A QT possui atividade fungicida contra diversas espécies de fungos (MARTINS, 2014) e pode atuar, também, como uma barreira protetora evitando o contato do fungo com a madeira.

Sabe-se ainda a QT possui característica catiônica em solução de  $\text{pH} < 6,5$ . Nestas soluções, os grupos aminos protonados ( $-\text{NH}_3^+$ ) podem interagir eletrostaticamente com as membranas celulares de microorganismos que estão carregadas negativamente. Esta interação causa a ruptura da membrana celular do microorganismo, causando a evasão de componentes celulares e, por fim, a morte do microorganismo (MARTINS, 2014).

A superfície dos corpos de prova foi totalmente recoberta pelo micélio dos fungos de podridão branca em apenas 11 dias (Figura 8A), enquanto os corpos de prova com TMC foram mais resistentes (Figura 8B). Ressalta-se que estes corpos de prova possuem dimensões de 0,5 x 0,5 x 0,3 cm e foram utilizados para a MEV.



**Figura 9** - Amostras de *Pinus* sp. (com dimensões de 0,5 x 0,5 x 0,3 cm) antes do tratamento (A) e após o tratamento com a TMC (B), após 11 dias de incubação à  $27\pm 2$  °C.

**Fonte:** A autora (2014).

A ação da TMC em proteger a madeira de *Pinus* sp. contra o ataque do fungo *T. versicolor* pode ser melhor compreendida através da técnica de MEV. A Figura 10 representa as micrografias dos corpos de prova das amostras testemunhas (Fig. 10A), amostras infectadas com micélios do fungo *T. versicolor* (Fig. 10B) e amostras tratadas com a TMC (Fig. 10C), processadas após 6 meses de incubação. A partir da análise das imagens de MEV obtidas com ampliações de 500 e 1000 vezes, verificou-se que a TMC possuiu potencial para proteger as amostras de *Pinus* sp.

A morfologia da superfície das amostras testemunhas contém fissuras, depressões, ondulações e fragmentos de madeira que ocorreram devido ao processo de preparo dos corpos de prova.

A micrografia da Figura 9B, destaca que o fungo *T. versicolor* depositou seu micélio integralmente por toda a superfície da amostra. Subbaiah e Yun (2013) apresentaram em seu estudo uma imagem de MEV do fungo *T. versicolor*. As imagens de MEV obtidas neste estudo foi comparada com a imagem apresentada por Subbaiah e Yun (2013) e os dados estão em acordo.

A partir da micrografia das amostras tratadas com a TMC fica evidente que este polímero inibiu o crescimento do fungo sobre a madeira de *Pinus* sp., ao passo que, não foi observado sobre as amostras o aspecto “fibroso” do fungo. Após a submersão do corpo de

prova na solução de TMC, o polímero foi adsorvido na superfície da amostra. Observa-se na Figura 9C que as ondulações, fissuras, depressões, bem como, a ocorrência de fragmentos de madeira sobre a superfície da amostra ficaram menos evidentes após a adsorção da TMC pelo material. Possivelmente, a TMC recobriu toda a superfície da madeira, interagindo com os componentes majoritários da amostra, a qual contém celulose, lignina, entre outros componentes. Além disso, a TMC e celulose são polissacarídeos que contém grupamentos hidrofílicos e estruturas similares, características estas que favorecem a associação destes componentes. Sugere-se também que a deposição da TMC atuou como uma barreira física entre o fungo de podridão branca e a madeira.

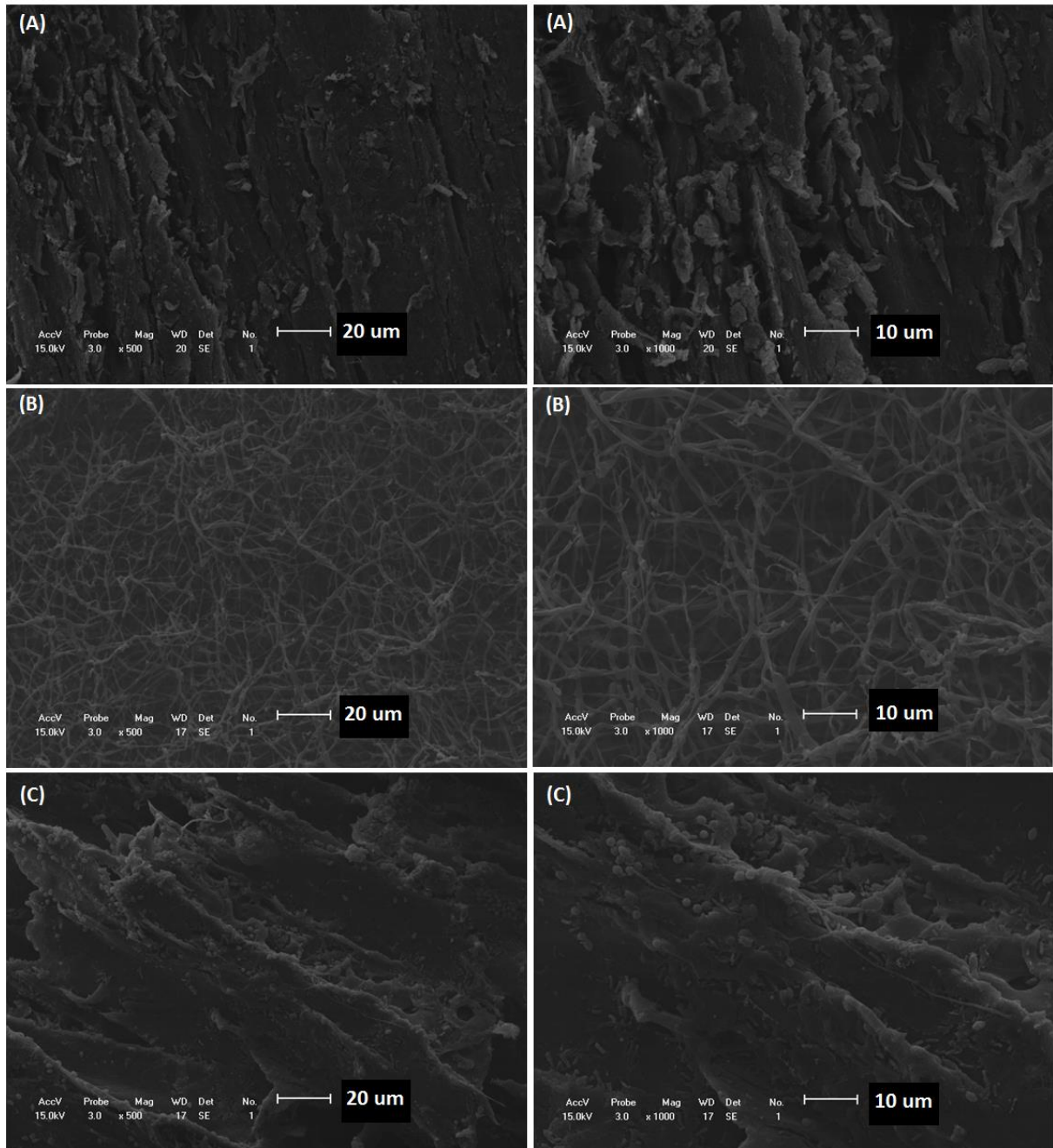
A TMC contém grupos catiônicos em sua estrutura, assim como a QT, que ocorrem devido ao processo de quaternização. O grupo  $-^+N(CH_3)_3$  possui densidade de carga positiva permanente e este sítio interage com as células de microorganismos, causando a ruptura e, posteriormente, a evasão de componentes celulares e a morte do microorganismo (MARTINS, 2014).

A seta em vermelho na Figura 9B ilustra uma pequena região na qual a TMC entrou em contato acidentalmente com o fungo presente na lâmina alimentadora. Neste caso, a TMC causou a morte do fungo, como pode ser visto na imagem da micrografia (10A). Estudos futuros serão realizados afim de ratificar o potencial fungicida da TMC sobre o *T. versicolor*.

A imagem de MEV na Figura 10C evidência a ocorrência de estruturas de microorganismos depositadas sobre a superfície da amostra tratada com TMC. As imagens de MEV foram processadas após 6 meses de incubação e, provavelmente, devido ao longo período de exposição e alto teor de umidade nas amostras podem ter favorecido a proliferação de bactérias no meio.

A TMC mostrou-se eficiente em proteger a madeira, inibindo o ataque do fungo causador da podridão branca. Ressalta-se que outro ponto relevante em relação ao uso deste polímero está relacionado ao custo de aquisição.





**Figura 10** - Imagens de MEV das amostras testemunha (A), amostras infectadas pelo micélio do fungo *T. versicolor* (B) e amostras tratadas com TMC (C). As imagens de MEV foram processadas após 6 meses de incubação à  $27\pm 2$  °C sobre a lâmina alimentadora.

**Fonte:** A autora (2015).

### 5.3 CLASSIFICAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO ATAQUE DO FUNGO

A perda de massa dos corpos de prova, nos diferentes tratamentos, foram classificadas em relação à resistência ao ataque do fungo *T. versicolor*, de acordo com a norma D 2017 (ASTM, 2005) (Tabela 3).

**Tabela 3** - Classificação da madeira de *Pinus* sp. quanto à resistência ao ataque do fungo *Trametes versicolor*, de acordo com a norma D 2017 (ASTM, 2005). Dois Vizinhos, 2015

Tratamentos	Perda de Massa (%)	Classes de Resistencia
Testemunha	11,92 a	Resistente
Metabólito de <i>Ganoderma lucidum</i>	4,78 b	Muito resistente
Quitossana	4,79 b	Muito resistente
TMC <sup>1</sup>	2,01 b	Muito resistente

<sup>1</sup> TMC é a sigla de N,N,N-trimetilquitossana.

\*Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Fonte: A autora (2015).

Observa-se que as amostras submetidas aos tratamentos com metabólito *G. lucidum*, QT e TMC foram classificados como muito resistentes. Já os corpos de prova testemunhas foram classificados como resistente, pois esta amostra apresentou perda de massa na faixa de 11 a 24% (Tabela 2).

Segundo Alves (2006), a resistência natural da madeira está associada a composição química da madeira, principalmente em relações as concentrações químicas dos extrativos. Além disso, de acordo com Oliveira (1986), essa resistência pode ser concedida pela presença de taninos e demais substâncias fenólicas situadas as madeiras, sendo nocivo a alguns fungos xilófagos.

Melo (2010) afirma que o fungo causador da podridão branca apresentou um ataque mais severo sobre amostras de *Eucalyptus grandis*, em relação as amostras de *Pinus* sp. O autor ressalta que o fungo *T. versicolor* tem preferência por madeira folhosa, afirmação está também mencionada por Adaskaveg (1990). No entanto, observou-se que o fungo *T. versicolor* também se desenvolveu sobre os corpos de provas de *Pinus* sp, apresentando perda de massa de 11,92% nas testemunhas (Tabela 2).

## 6. CONCLUSÃO

- O tratamento da madeira de *Pinus* sp com os polímeros QT e TMC e com o metabólito *G. lucidum* reduziu o dano causado pelo fungo *T. Versicolor*, apresentando potencial para preservação de madeira.
- A perda de massa da madeira de *Pinus* sp. tratada com o metabólito de *G lucidum*, após o ataque do fungo *T. versicolor*, foi de 4,78%;
- A perda de massa da madeira de *Pinus* sp. tratada com a QT e TMC foi 4,79% e 2,01%, respectivamente;
- As amostras submetidas aos tratamentos preservativos com metabólito, QT e TMC foram classificadas como Muito Resistentes ao ataque do agente causador da podridão branca, de acordo com a norma D2017 (ASTM 2005).

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADASKAVEG, James E; GILBERTSON, Robert Lee; BLANCHETTE Robert. Estudos comparativos de designificação causada por *Ganoderma* espécies. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990. p.56.

ALEXOPOULOS, Constantine John; MINS, Chales. **Intrductory mycology**. 4 ed. New York, 1996. Wiley, 868p.

ALVES, Marcos Vinicius da Silva; COSTA, Alexandre Florian da; ESPIG, Daniele da Silva; VALE, Ailton Teixeira do. Resistência natural de seis espécies de madeiras da região amazônica a fungos apodrecedores, em ensaio de laboratório. **Revista Ciência Florestal**, v.16, n.1, p.17-26, Santa Maria, 2006.

AMERICAN SOCIETY TESTING AND MATERIALS. **ASTM D 2017**. Standard method for accelerated laboratory test of natural decay resistance for woods. Philadelphia, 1994.

AMERICAN SOCIETY TESTING AND MATERIALS. **ASTM D 2017**. Standard method for accelerated laboratory test of natural decay resistance for woods. Philadelphia, 2005

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7190**: Projeto de estruturas de madeira. Rio de Janeiro, 1997. 107 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE FLORESTAS PLANTADAS – ABRAF. Disponível em: <<http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/handle/123456789/3887>>. Acesso em: 18 de novembro de 2014.

BAIG, Mirza Nabeel; SHAHID, Ahmad Ali; ALI, Muhammad. *In Vitro* assessment of extracts of the Lingzhi or Reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes) against different plant pathogenic fungi. **Revista Internacional de Cogumelos Medicinais**. V.17. ed.4. p.407 – 411. Estados Unidos, 2015.

BARILLARI, Cristiane Tabarelli. **Durabilidade da madeira do gênero *Pinus* tratada com preservantes: avaliação em campo de apodrecimento**. 2002. 79 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Curso de Pós Graduação de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

BRAMD, Martha Andreia Brand; ANZALDO, José; MORESCHI, João Carlos. Novos produtos para o tratamento preservante da madeira. “perspectivas da pesquisa e utilização”. **Revista Floresta**, v. 36, n. 1, Curitiba, 2006.

BORCHERS, Attorney Timothy; KEEN, Carl Lee; GERSHWIN, Eric. Mushrooms, tumors, and immunity: an update. **Revista Exp. Biol. Med.** v. 229. p. 393-406, Califórnia, 2004.

CÉZAR, Tatiana Mazon. **Organogênese direta de *Pinus taeda* L.** 2011. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Área Botânica) - Curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

CROAN, Seafoods. Environmentally benign biological wood preservatives by *Streptomyces rimosus*, SC-36. In: 28<sup>o</sup> Annual Meeting Whistler. 1997, Canadá. **Anais....** Canadá. 1997.

EATON, Rod; Hale, Mike. **Wood: decay, pests and protection**. London: Chapman & Hall. 546p. 1993.

FERREIRA, José Pinto da Rocha. **Análise da cadeira produtiva e estrutura de custos do setor brasileiro de produtos resinosos**. 2001. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Economia Aplicada) – Curso de Pós Graduação em Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

GIMENES, Luciana Jandelli. Fungos Basidiomicetos técnicas de coleta, isolamento e subsídios para processos biotecnológicos. 2010. 105 f. Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente - Curso de Capacitação de Monitores e Educadores, Instituto de Botânica, São Paulo, 2010.

GODOY, Marizete de Fátima Pimentel. **Atividade antimicrobiana de extratos e frações do cultivo *in vitro* de *Lentinula edodes* contra *Xanthomonas axonopodis* pv *passiflorae*, *Guignardia citricarpa*, *Colletotrichum sublineolum* e *Tabacco mosaic virus***. 2008. 126 f. Tese (Doutorado em Agronomia, Área de concentração: Microbiologia Agrícola) – Curso de Pós graduação em Agronomia, Universidade de São Paula, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

GOMES, Joaquim Ivanir; FERREIRA, Gracialda Costa. **Durabilidade natural de quatro madeiras Amazônicas em contato com o solo**. Belém, EMBRAPA, Comunicado Técnico n<sup>o</sup> 66, 2002.

HASSEGAVA, Mariana. **Qualidade de madeira de *Pinus taeda* L. de proedência da África do sul**. 2003. 105 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Curso de Pós Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

HIGHLEY, Tracy; PADMANABHA, Anantha; HOWELL, Caesar Rodney. Antagonistic properties of *Gliocladium virens* against wood attacking fungi. In: 27<sup>th</sup> Annual Meeting. The international research group on wood preservation, 1996, Guadalupe. **Anais...**Guadalupe, 1996

HOCKER, Junior; HAROLD, W. Certain aspects of climate as related to the distribution of loblolly pine. **Magazine Ecology**, Vol. 37, N<sup>o</sup> 4, Durhan, 1956.

IAPAR, INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. **Sistema de Monitoramento Agroclimático do Paraná**. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=604>. Acesso em: 17 de Novembro de 2014.

IWAKIRI, Setsuo; MENEZZI, Claudio, Del; LAROCA, Christine; VENSON, Ivan; MATOSKI, Selma Schmidlin. Produção de compensados de *Pinus taeda* e *Pinus oocarpa* com resina fenol-formaldeído. **Revista cerne**, V. 8, N.2, p.092-097, Curitiba, 2002.

JUNIOR, José de Felipe. Ganoderma lucidum. **Revista American Herbal Pharmacopoeia**. ISSN: 1538-0297. Scotts Valley, 2006.

LORENZI, Harri; SOUZA, Hermes Moreira de; TORRES, Maria Antonio Vermond; BACHER, Luiz Benedito. **Árvores exóticas no Brasil: Madeira, ornamentais e aromáticas**. Instituto Plantarum. Nova Odessa, 2003.

KOHLER, Sintia Valerio. **Evolução do afilamernto do tronco e do sortimento em plantios de *Pinus taeda* nos estados do Paraná e Santa Catarina**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal, Área de concentração em Manejo Florestal) – Curso de Pós Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

MAACK, Reinhard. **Geografia física do Estado do Paraná**. Rio de Janeiro, J. Olympio, 442p. 1981.

MARTINS, Alessandro Francisco; FACCHI, Suelen Pietrobon; FOLLMANN, Heveline Dal Magro; PEREIRA, Antonio Guilherme Basso; RUBIRA, Adley Forti; MUNIZ, Edvani Curti. Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing N-quaternized moieties in its backbone: a review. **Revista International Journal of Molecular Sciences**. V. 15, p. 20800 - 20832, EUA, 2014.

MARTINS, Alessandro Francisco; FACCHI, Suelen Pietrobon; MONTEIRO, Johny Paulo; NOCCHI, Samara; SILVA, Cleiser Tiago; MAKAMURA, Celso Vataro; GIROTTO, Emerson Marcelo; RUBIRA, Adley Forti; MUNIZ, Edvani Curti. Preparation and cytotoxicity of N,N,N-trimethyl chitosan/alginate beads containing gold nanoparticles. **Revista International Journal of Biological macromolecules**. V. 72, p. 466- 471, EUA, 2015.

MARTINS, Alessandro Francisco; PEREIRA, Antonio Guilherme Basso; FAJARDO, André Ricardo; RUBIRA, Adley Forti; MUNIZ, Edvani Curti. Characterization of polyelectrolytes complexes based on N,N,N-trimethyl chitosan/heparin prepared at different pH conditions. **Revista Carbohydrate Polymers**. V. 86, p. 1266 - 1272, EUA, 2011.

MARTINS, Alessandro Francisco; OLIVEIRA, Daiane de; PEREIRA, Antonio Guilherme Basso; RUBIRA, Adley Forti; MUNIZ, Edvani Curti. Chitosan/TPP microparticles obtained by microemulsion method applied in controlled release of heparin. **Revista International Journal of Biological macromolecules**. V. 51, p. 1127-1133, EUA, 2012.

MENDES, Alfredo de Souza; ALVES, Marcus Vinicius da Silva. A degradação da madeira e sua preservação. Brasília, 1988.

MELO, Rafael Rodolfo de; SANTINI, Elio José; PAES, Juarez Benigno; GARLET, Alencar; STANGERLIN, Diego Martins; MENEZZI, Cláudio Henrique Soares Del. Resistência de Painéis aglomerados confeccionados com madeira de *Eucalyptus grandis* e diferentes adesivos a fungos e cupins xilófagos. **Revista Cerne**, Lavras, v. 16. p.82-89, 2010.

NICHOLAS, Darrel D. **Wood preservation and its preserntion by preservatives treatments**. Suni: Syracuse University Press, v. 1, 380p. 1985.

OLIVEIRA, Augusto Marcone leal de; LELIS, Agostinho Teixeira; LOPEZ, Gachuz; OLIVEIRA, LincolnCarlos Silva de; CAÑEDO, Mario. Agentes destruidores da madeira. **In:** Manual de preservação de madeiras. v.1, p.102-107, São Paulo, 1986.

OLIVEIRA, José Tarcísio da Silva; SOUZA, Leonardo Chargas de; DELLA LUCIA, Ricardo Marius; SOUZA JÚNIOR, Wagner Patrício de. Influência dos extrativos na resistência ao apodrecimento de seis espécies de madeira. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 5, p. 819-826, 2005.

POSSENTI, Jean Carlo; GOUVEA, Alfredo de; MARTIN, Thomas Newlton ; CADORE, Douglas. Distribuição da Precipitação Pluvial em Dois Vizinhos, Paraná, Brasil. In: I SEMINÁRIO SISTEMAS DE PRODUÇÃO AGROPECUÁRIA NA UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ, Dois Vizinhos. **Anais...** Dois Vizinhos: UTFPR 2007. p. 140 -142.

RUBEL, Rosália. **Produção de compostas bioativos de *Ganoderma lucidum* por fermentação em estado sólido: avaliação da ação antitumoral, imunomoduladora e hipolipidêmica.** 193 f. Tase (Doutorado) Curso de Pós Graduação em Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SERPA, Pedro Nicolau; VITAL, Benedito, Rocha. Propriedade da madeira de *Pinus elliotti*. **Revista da Madeira**, edição nº89, Abril de 2005.

SHIMIZU, Jarbas Yukio. Pinus na silvicultura brasileira. **Revista da Madeira**, edição nº 99, Setembro de 2006.

SHIMIZU, Jarbas; HIGA, Antonio. Vavriação racial do *Pinus taeda* L. no sul do Brasil até o sexto ano de idade. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 2, p. 1-25, Colombo, 1981.

SUBBAIAH, Munagapati Venkata; YUN, Yeoung Sang. Biosorption of Nickel(II) from Aqueous Solution by the Fungal Mat of *Trametes versicolor* (Rainbow) Biomass: Equilibrium, Kinetics, and Thermodynamic Studies. **Revista Research Paper**. p. 561-756, Coréia, 2013.

VIVIAN, Magnos Alan. **Resistência biológica da madeira tratada de *Eucalyptus* e *Eucalyptud cloeziana* em ensaios de laboratório e campo.** 105 f. Dissertação ( Mestrado em Engenharia Florestal, Área de Comcentração em Tecnologia de Produtos Florestal) – Curso de Pós Graduação em Engenharia Florestal, da Univesidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

WILKINSON, J. GORDON. **Industrial timber preservation.** London: Associates Business Press, 1979. 531p.