

MARLON MICHEL ANTÔNIO MOREIRA NETO

**AVALIAÇÃO DO USO DE RESISTÓGRAFO PARA DETECÇÃO NÃO
DESTRUTIVA DA MURCHA-DE-CERATOCYSTIS EM ÁRVORES DE EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Emerson Medeiros Del Ponte

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M838a
2022
Moreira Neto, Marlon Michel Antônio, 1989-
Avaliação do uso de resistógrafo para detecção não
destrutiva da murcha-de-ceratocystis em árvores de eucalipto /
Marlon Michel Antônio Moreira Neto. – Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (38 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Orientador: Emerson Medeiros Del Ponte.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Fitopatologia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.529>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Eucalipto - Resistência a doenças e pragas.
2. Murcha-de-ceratocystis. 3. *Ceratocystis fimbriata*. I. Del
Ponte, Emerson Medeiros, 1973-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Fitopatologia. Programa de
Pós-Graduação em Defesa Sanitária Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 634.973766

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB-6/2523

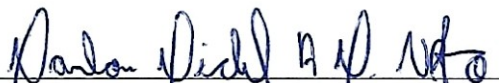
MARLON MICHEL ANTÔNIO MOREIRA NETO

**AVALIAÇÃO DO USO DE RESISTÓGRAFO PARA DETECÇÃO NÃO
DESTRUTIVA DA MURCHA-DE-CERATOCYSTIS EM ÁRVORES DE EUCALIPTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação do Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de agosto de 2022

Assentimento:



Marlon Michel Antônio Moreira Neto

Autor



Emerson Medeiros Del Ponte

Orientador

À minha família, pelo apoio incondicional.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À empresa Veracel Celulose S/A, por me liberar para frequentar as aulas e permitir executar o experimento deste projeto nas instalações da empresa.

À minha esposa Maria Moreira e minha filha Ana Carolina pelo amor, dedicação e apoio para que eu continuasse meus estudos.

Ao meu pai José Carlos e ao meu irmão Sharlles Dias pelo incentivo.

Ao professor Emerson Medeiros Del Ponte pela orientação e paciência.

Ao professor Marcelo Picanço pela confiança e apoio durante o curso.

Aos colegas de trabalho: Evandro Freitas, Philippe Souza, Sebastião operador de motosserra, Lucas Benso, Rafael Tiburcio, Helton Lourenço e David Fernandes que acreditaram e participaram ativamente deste trabalho e que sem eles não seria possível a execução.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

“Se você pensa que pode, ou se pensa que não pode, de qualquer forma você está certo”.

(Henry Ford)

RESUMO

MOREIRA NETO, Marlon Michel Antônio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2022. **Avaliação do uso de resistógrafo para detecção não destrutiva da murcha-de-Ceratocystis em árvores de eucalipto.** Orientador: Emerson Medeiros Del Ponte.

Ceratocystis fimbriata é um fungo polífago que tem causado danos com perdas econômicas em várias espécies, dentre essas o eucalipto. A ocorrência da murcha-de-Ceratocystis em eucalipto no Brasil teve seu primeiro relato em 1997 e, atualmente, é uma das principais doenças da cultura. O método de identificação da doença consiste na observação dos sintomas, o que nem sempre é possível, uma vez que nem sempre plantas infectadas apresentam sintomas externos. O sintoma mais evidente da doença é a observação do escurecimento do lenho em manchas radiais cuja observação requer que o tronco seja seccionado inteiro ou parcialmente, matando a planta ou causando ferimentos que podem ocasionar outras doenças. A inexistência de métodos não destrutivos para a identificação e quantificação da doença dificulta a adoção de estratégias preditivas que minimizem as perdas ocasionadas pelo patógeno. O equipamento resistógrafo pode efetuar a mensuração da densidade básica das porções de lenho avaliadas, sem, no entanto, a necessidade de abate ou corte agressivo do lenho. Partindo das observações de literatura em que a doença pode reduzir a densidade básica da madeira em até 10%, foram efetuadas mensurações em 130 árvores em área infectada, sendo 30 para comparação de métodos de obtenção de densidade e 100 para avaliação do uso do equipamento para detecção da doença. Não houve diferença significativa entre a obtenção de densidade básica com uso do resistógrafo comparado com a balança hidrostática com densidade média de 483,9 kg/m³ e 480,9 kg/m³ respectivamente. Foram observadas baixas correlações -0,073, entre a diminuição da densidade básica e a colonização do lenho pela doença. As plantas sadias apresentaram densidade média de 492,66 kg/m³ enquanto plantas doentes 488,89 kg/m³ não havendo diferença estatística entre os valores. O uso do resistógrafo não ofereceu informações suficientes que permitam a identificação da infecção por *C. fimbriata* em plantios antes da colheita.

Palavras-Chave: Eucalipto. Murcha de Ceratocystis. *Ceratocystis fimbriata*. Resistógrafo.

ABSTRACT

MOREIRA NETO, Marlon Michel Antônio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August 2022. **Evaluation of the use of resistograph for non-destructive detection of Ceratocystis-wilt in eucalyptus trees.** Adviser: Emerson Medeiros Del Ponte.

Ceratocystis fimbriata is a polyphagous fungus that has caused damage with economic losses in several species, including eucalyptus. The occurrence of Ceratocystis-wilt in eucalyptus in Brazil was first reported in 1997 and is currently one of the main diseases of the crop. The method of identifying the disease consists of observing the symptoms, which is not always possible, since infected plants do not always present external symptoms. The most obvious symptom of the disease is the observation of discoloration of the wood in radial spots, whose observation requires that the trunk be cut in whole or in part, killing the plant or causing injuries that can cause other diseases. The lack of non-destructive methods for the identification and quantification of the disease makes it difficult to adopt predictive strategies that minimize the losses caused by the pathogen. The resistograph equipment can measure the basic density of the evaluated wood portions, without, however, the need for felling or aggressive cutting of the wood. Based on observations in the literature in which the disease can reduce the basic density of wood by up to 10%, measurements were carried out on 130 trees in an infected area, 30 of which were used to compare methods for obtaining density and 100 to evaluate the use of equipment for disease detection. There was no significant difference between obtaining basic density using the resistograph compared with the hydrostatic balance with average density of 483.9 kg/m³ and 480.9 kg/m³ respectively. Low correlations -0.073 were observed between the decrease in basic density and the colonization of wood by the disease. Healthy plants had an average density of 492.66 kg/m³ while diseased plants had 488.89 kg/m³, with no statistical difference between the values. The use of the resistograph did not provide enough information to allow the identification of *C. fimbriata* infection in plantations before harvest.

Keywords: Eucalyptus. Ceratocystis wilt. *Ceratocystis fimbriata*. Resistograph.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Município de Belmonte – BA. Fonte: Wikipedia (2022).	18
Figura 2 – Vista da operação para obtenção de dados com resistógrafo IML. A) Mensuração, B) Foto do toco após corte. O Autor (2021).	19
Figura 3 – Vista detalhada de corte em árvore classificada como A) sadia, B) doente com sintomas da murcha-de-ceratocystis. Fonte: O Autor (2021).	20
Figura 4 – Matriz de dispersão densidade básica em relação a colonização do lenho por <i>C. fimbriata</i> 30 plantas.	23
Figura 5 – Matriz de dispersão densidade básica em relação a colonização do lenho por <i>C. fimbriata</i> 100 plantas.	24
Figura 6 – Resíduo de lenho após mensuração com resistógrafo. A) Broca, B) Mandril	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparativo de métodos para obtenção de densidade.	22
Tabela 2 – Correlação entre os métodos em relação à sanidade.	22
Tabela 3– Teste de médias densidade básica da madeira 30 plantas.....	23
Tabela 4– Teste de médias densidade básica da madeira 100 plantas.....	25
Tabela 5– Dados para plantas saudáveis e plantas infectadas por <i>Ceratocystis</i> fimbriata nos quatro locais.....	25

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABRAF Associação Brasileira de Produtores de Florestas Plantadas.

IBÁ Indústria Brasileira de Árvores.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

LAT Latitude.

LON Longitude.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 A murcha-de-ceratocystis	13
3.2 Resistógrafo	17
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4.1 Local de estudo	18
4.2 Avaliação da densidade básica da madeira	19
4.3 Correlação entre o percentual de perda de densidade e o percentual de área de colonização do lenho	21
4.4 Validação do método	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS.....	27
APÊNDICE A – TUTORIAL PARA PROCESSAMENTO DE FOTOS PARA DETERMINAÇÃO DE ÁREAS AFETADAS POR CERATOCYSTIS NO SOFTWARE IMAGEJ.....	33

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, no Brasil, são cultivados mais de 7,6 milhões de hectares com plantios de eucalipto (IBGE, 2019). O grande interesse pelo uso das espécies do gênero *Eucalyptus* nos reflorestamentos é devido principalmente à sua boa adaptação em diferentes condições edafoclimáticas e o rendimento de matéria-prima para as indústrias florestais (IBÁ, 2016). Com uma produção estimada de 18,2 milhões de toneladas de celulose de fibra curta o Brasil figura como segundo maior produtor no mundo (IBÁ, 2021) demonstrando assim sua importância econômica nacional.

Assim como em outras culturas, diversas pragas e doenças incidem nos plantios de eucalipto, afetando consideravelmente a sua produtividade. A murcha-de-Ceratocystis, causada pelo fungo *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted, é uma das principais doenças do eucalipto no sul baiano e em outras regiões brasileiras (Alfenas *et al.*, 2009). Condições como umidade elevada e altas temperaturas favorecem a ocorrência em plantios de eucalipto (Alfenas *et al.*, 2009). A penetração de *C. fimbriata* ocorre a partir de ferimentos frescos no sistema radicular ou no tronco. Esses ferimentos podem ser causados por ferramentas e equipamentos utilizados no manejo da cultura bem como por ferimentos causados por estresses ambientais (Ferreira *et al.*, 2006). Os sintomas da murcha-de-ceratocystis caracterizam-se por murcha em folhas laterais que evoluem para uma murcha generalizada com escurecimento do lenho tanto no sentido radial quanto longitudinal, causando obstrução do fluxo de seiva de uma porção de câmbio vascular, floema e feloderme (Ferreira *et al.*, 2006). Sabe-se que a infecção do eucalipto por *Ceratocystis fimbriata* provoca o escurecimento do lenho, e em casos mais severos a murcha e morte das plantas. A doença ocasiona perdas em crescimento volumétrico e qualidade da madeira, levando a elevados prejuízos econômicos, uma vez que pode reduzir até 87% o crescimento volumétrico das árvores no campo e o rendimento de celulose em 13,7%, além de diminuir o valor da madeira para serraria e carvão vegetal (Mafia *et al.*, 2013; Fernandes *et al.*, 2014). Em trabalhos realizados para avaliação do impacto da doença na produtividade de celulose foi relatado que a madeira com fungo apresentou densidade básica inferior 10% da madeira normal (Araújo *et al.*, 2007), sendo que o menor valor de densidade básica da madeira com fungo foi atribuído ao fato desses microorganismos atacarem principalmente a celulose pois ela tem o maior peso molecular dentre os constituintes do lenho.

A melhor forma de controle desta doença nos plantios florestais é o uso de materiais genéticos resistentes (Alfenas *et al.*, 2009). Entretanto, nem sempre é possível deixar de efetuar o plantio de materiais genéticos suscetíveis dado, principalmente daqueles que apresentam alta produtividade, assumindo-se assim, o risco de ocorrência da doença.

Apesar da existência de técnicas para detecção da ocorrência de *C. fimbriata* sem a necessidade de abate das plantas, não existem, atualmente, métodos operacionais seguros e não destrutivos para determinação da presença da doença em plantios comerciais, dificultando a tomada de ação para o manejo de áreas com presença da doença. A obtenção de parâmetros como densidade já pode ser realizada com uso de instrumentos minimamente invasivos, como por exemplo, o resistógrafo que não necessita do abate das árvores para realização das medições e caso apresente variações em função da presença da doença, pode ser utilizado como ferramenta de detecção.

A identificação e a quantificação percentual da doença em plantios comerciais sem necessidade de abate ou cortes profundos, podem ajudar no direcionamento de ações a serem tomadas, como por exemplo, a decisão pela reversão da área em um novo plantio e o direcionamento para aproveitamento na geração de energia ao invés da obtenção de celulose. Além disso, a quantificação da doença pode prover dados importantes para o inventário florestal, fornecendo estimativas de perda de produtividade em função da presença da doença.

2. OBJETIVO

Avaliar se o uso do resistógrafo para obtenção da densidade em árvores em pé pode ser utilizado para detecção da presença de colonização do lenho por *Ceratocystis fimbriata* através da observação de variações anormais deste parâmetro.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A murcha-de-ceratocystis

3.1.1 Importância econômica

Doenças causadas por *C. fimbriata* podem ser de grande importância local. O fungo dizimou alguns clones de eucalipto em plantações no Brasil, e relatos da doença

em eucalipto no Congo e Uganda indicaram níveis graves de mortalidade (Roux *et al.*, 2000, 2001).

3.1.2. Agente causal

A literatura sugere que populações introduzidas de *C. fimbriata* de forma global permaneceram até agora restritas à hospedeiros cultivados. Isto se deve ao fato de provavelmente existirem uma faixa relativamente estreita de hospedeiros às cepas introduzidas (Walker *et al.*, 1988; Johnson *et al.*, 2002; Baker *et al.*, 2003). Algumas formas do fungo, como as que ocorrem no Brasil, têm uma gama de hospedeiros relativamente ampla (Baker *et al.*, 2003) e podem ser potencialmente mais invasivas se introduzidas em novos ecossistemas.

O fungo *C. fimbriata* pode ser descrita conforme classificação Taxonômica:

Domínio: Eucariota

Reino: Fungos

Filo: *Ascomycota*

Subfilo: *Pezizomycotina*

Classe: *Sordariomycetes*

Subclasse: *Hipocreomycetidae*

Ordem: *Microescalas*

Família: *Ceratocystidaceae*

Gênero: *Ceratocystis*

Espécie: *Ceratocystis fimbriata*

3.1.3. Biologia do patógeno

Ceratocystis fimbriata cresce facilmente na maioria dos meios de cultura com diferentes fontes de carbono. O micélio é inicialmente hialino, depois se tornando marrom-esverdeado escuro. Dentro de poucos dias há conidióforos geralmente abundantes que produzem cadeias de conídios hialinos, às vezes chamados de endoconídios, característicos do gênero anamorfo *Chalara*. No entanto, as espécies de *Chalara* são anamorfos de discomicetos, e o gênero *Thielaviopsis* é agora usado para anamorfos de espécies de *Ceratocystis* (Paulin *et al.*, 2002). Os endoconídios são cilíndricos e podem variar em tamanho de 11 a 16 mm de comprimento por 4 a 5 mm de largura (Hunt., 1956). Conidióforos especializados dão origem a aleuroconídios

pigmentados de paredes espessas, provavelmente um esporo de sobrevivência. Os aleuroconídios têm tipicamente 9-16 µm de comprimento e 6-13 µm de largura, isolados ou em cadeias curtas. Os endoconídios também podem escurecer e tornar-se clamidósporos de paredes espessas, assemelhando-se assim aos aleurioconídios. Endoconídios, clamidósporos formados a partir de endoconídios e aleurioconídios podem ser produzidos no substrato e dentro dele.

O teleomorfo do fungo está bem adaptado à dispersão de insetos. O fungo tem dois tipos de acasalamento, onde isolados específicos só podem produzir peritécios quando pareados com outros isolados auto-férteis enquanto, os isolados auto-férteis não precisam de fecundação devido à troca unidirecional do tipo de acasalamento (Harrington *et al.*, 1997; Witthuhn *et al.*, 2000). A maioria dos isolados de campo são auto-férteis, produzindo muitos corpos de frutificação na superfície do hospedeiro ou em cultura, geralmente dentro de uma semana. Os ascomatas são castanho-escuros a pretos e globosos, com 130-200 µm de diâmetro com um pescoço longo e fino de até 800 µm de comprimento, através do qual os ascósporos são exsudados. A abertura na ponta do pescoço tem 8 a 15 hifas ostiolares que variam em comprimento de 50 a 90 µm. Os ascósporos são pequenos, hialinos e em forma de chapéu, com 4,5-8 µm de comprimento por 2,5-5,5 µm de largura, e se acumulam em uma matriz pegajosa na ponta do pescoço ascomatal, onde aparecem como uma bola ou espiral creme a rosa.

Por causa das numerosas espécies crípticas no complexo de *C. fimbriata* e da história do movimento mediado pelo homem de cepas especializadas em hospedeiros ao redor do mundo (Baker *et al.*, 2003), é difícil saber qual dos relatos de *C. fimbriata* em países específicos são de populações nativas de *C. fimbriata* ou de populações exóticas. Para alguns casos há evidências claras de que o patógeno foi introduzido, como nas cultivares ornamentais de *Syngonium* cultivadas em estufas (Walker *et al.*, 1988).

3.1.4. Gama de hospedeiros

Uma grande variedade de plantas anuais e perenes são atacadas por *C. fimbriata*. Existem várias cepas aparentemente especializadas em hospedeiros que às vezes são chamadas de 'tipos', 'raças' ou 'formas' (Wellman *et al.*, 1972; Harrington *et al.*, 2000; Baker *et al.*, 2003). Estudos de inoculação cruzada estabeleceram a especificidade do hospedeiro em função da raça dos isolados. Por exemplo, isolados

de *Mangifera* (Ribeiro *et al.*, 1968), *Ipomoea*, *Platanus*, *Gmelina*, *Coffea*, *Xanthosoma*, *Eucalyptus* (Baker *et al.*, 2003), *Crotalaria*, *Cajanus* e *Acacia* (Coral *et al.*, 1984) não infectou *Theobroma*. Isolados de *Ipomoea* e *Colocasia* foram específicos do hospedeiro quando inoculados nesses dois hospedeiros (Mizukami., 1951), assim como isolados de *Hevea* e *Ipomoea* (Olson *et al.*, 1949), e *Coffea* e *Ipomoea* (Pontis., 1951). Isolados de *Coffea*, *Prunus*, *Theobroma*, *Quercus* e *Colocasia* falharam em infectar *Ipomoea* (Kojima., 1976). Isolados de *Platanus*, *Prunus* (amêndoa e damasco), *Mangifera*, *Xanthosoma*, *Gmelina*, *Eucalyptus* e *Theobroma* não foram patogênicos para *Ipomoea*, e isolados de *Ipomoea*, *Prunus*, *Platanus*, *Coffea*, *Mangifera*, *Xanthosoma*, *Gmelina*, *Eucalyptus* e *Theobroma* não eram patogênicos para *Platanus* (Crone., 1963; Baker *et al.*, 2003). Isolados da Costa Rica de *Theobroma*, *Coffea* e *Xanthosoma* foram especializados para seus respectivos hospedeiros (Baker *et al.*, 2003). Entre os isolados brasileiros de vários hospedeiros, apenas um isolado de *Gmelina* poderia infectar *Gmelina* (Baker *et al.*, 2003). Um isolado de *Syngonium* da Austrália infectou várias cultivares de *Syngonium*, outras *Araceae* e *Crotalaria*, mas não *Platanus*, *Prunus spp.* ou *Ipomoea* (Vogelzang., 1990).

3.1.5. Ciclo da doença e sintomas

Ceratocystis fimbriata é principalmente um patógeno do xilema. Em árvores (*Eucalyptus*, *Khaya*, *Mangifera*, *Prunus* etc.), a infecção ocorre tipicamente através de feridas recentes (Giraldo., 1957; Moller *et al.*, 1969), embora as infecções de raízes também sejam comuns (Ribeiro *et al.*, 1986; Rossetto *et al.*, 1990; Laia *et al.*, 2000). Micélio e esporos entram nas feridas e se movem através do xilema nas células condutoras de água e nas células do parênquima dos raios. O fungo causa coloração marrom-avermelhada escura a roxa a marrom-escura ou preta no xilema. Essa coloração pode se estender por vários metros das raízes, até o tronco da árvore e até os galhos. Quando os ramos ou troncos afetados são cortados em seção transversal, a coloração ao longo dos raios dá um padrão distinto em forma de cunha ou estrela (Sinclair *et al.*, 1987). Na superfície do tronco ou galhos, os cancrios podem se desenvolver sobre áreas de escurecimento do xilema e os cancrios podem exsudar goma. Os cancrios de galhos e troncos são particularmente comuns em *Populus*, *Prunus*, *Platanus* (Sinclair *et al.*, 1987) e *Eucalyptus* (Laia *et al.*, 2000.), embora o murchamento também possa ocorrer na ausência de desenvolvimento de cancro. As folhas murchas normalmente ficam secas e enroladas repentinamente, mas

permanecem presas à árvore por várias semanas. Em *Platanus*, folhas individuais de ramos afetados frequentemente apresentam clorose e necrose internerval, talvez associadas a fitotoxinas produzidas por fungos (Ake *et al.*, 1992; Alami *et al.*, 1998).

As feridas, naturais ou de atividades humanas, são importantes fontes de infecção para todos os membros do gênero *Ceratocystis*, incluindo *C. fimbriata*. O inóculo pode atingir uma ferida aberta sendo soprado pelo vento em excrementos de insetos (Iton., 1960) ou sendo carregado por insetos que visitam a ferida. Besouros nitidulídeos que se alimentam de fungos e seiva de plantas podem ser importantes vetores (Moller *et al.*, 1968). Práticas de cultivo, como podas, também podem fornecer cortes de infecção (Teviotdale *et al.*, 1991).

Ceratocystis fimbriata geralmente cresce melhor em temperaturas de 18 a 28°C e é capaz de produzir ascósporos em uma semana (EPPO/CABI, 1997). O fungo provavelmente sobrevive a condições adversas como micélio dentro da planta hospedeira, ou como aleurioconídios no solo ou em plantas hospedeiras ou detritos. Acredita-se que a doença em seja mais grave durante períodos de estresse abiótico, particularmente estresse por seca (Spence., 1958), ou chuva excessiva (Malaguti., 1952). Em *Ipomoea*, o ataque de *C. fimbriata* pode ser aumentado pela deficiência de boro no solo (Hu *et al.*, 1999).

A diagnose da doença geralmente é realizada através da observação de sintomas, como murcha de folhas, escurecimento do lenho ou através do isolamento de estruturas do fungo com uso de iscas de cenoura. Neste método de isolamento os discos de cenoura funcionam como meio natural seletivo, no qual apenas o patógeno tem capacidade de colonizar e produzir esporos sob as iscas (Moller *et al.*, 1968).

3.2 Resistógrafo

Dentre os métodos não destrutivos que podem ser usados na avaliação da qualidade da madeira, está a utilização do equipamento resistógrafo. Esse equipamento tem grande potencial na avaliação de árvores em campo, devido a sua modernização com a utilização de componentes mais leves permitindo maior portabilidade, o aprimoramento da durabilidade da bateria, além dos avanços nas pesquisas, com modelos de estimativa de densidade por resistografia (Rinn., 2012; Dias *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019). A decomposição interna do lenho ao causar redução na resistência mecânica à perfuração pela agulha pode ser diagnosticada

pelo gráfico obtido com o resistógrafo. A partir deste gráfico, pode-se inferir diferentes estádios de decomposição pela queda das curvas, com altos valores de resistência à perfuração detectados ao redor das regiões de madeira podre do tronco de árvores vivas (Ferreira *et al.*, 2007). A resistografia também tem sido amplamente utilizada para determinação da densidade básica da madeira, principalmente na seleção fenotípica de novos clones de *Eucalyptus* e *Corymbia*, devido a agilidade de coleta e processamento dos dados obtidos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de estudo

Foram avaliadas 130 árvores clonais de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, na idade 7 anos, da empresa Veracel Celulose S.A. O talhão (LAT - 16.098784° / LON -39.328242°) está localizado no município de Belmonte – BA, (Figura 1).



Figura 1 – Município de Belmonte – BA. Fonte: Wikipedia (2022).

4.2 Avaliação da densidade básica da madeira

O estudo teve o objetivo de validar os dados coletados com uso do resistógrafo modelo IML-RESI PD400 -2247 Systems® (IML Instrumenta Mechanik Labor System GmbH, Wiesloch, Alemanha) e foi realizado através da perfuração transversal de todo o lenho na altura de 20 cm em 30 árvores selecionadas de modo aleatório no talhão que não apresentavam sintomas típicos externos. Após a obtenção dos dados da perfuração, as árvores foram abatidas com uso de motosserra com óleo de lubrificação claro para não manchar a madeira na mesma altura da obtenção de leitura com resistógrafo. Uma foto da base do tronco cortado foi retirada utilizando uma régua de referência ao lado do tronco para análise da área afetada pela doença com uso do Software ImageJ® (FIGURA 2). Após obtenção da foto um disco do tronco com 30 mm de espessura foi retirado na região de perfuração do resistógrafo, os discos foram coletados utilizados para cálculo da densidade básica da madeira em laboratório para comparação com os dados obtidos com resistógrafo.



Figura 2 – Vista da operação para obtenção de dados com resistógrafo IML. A) Mensuração, B) Foto do toco após corte. O Autor (2021).

Os discos coletados foram descascados e classificados se originários de plantas sadias (sem sintomas da doença) ou doentes (com sintomas da doença) (FIGURA 3). A confirmação da doença foi obtida através do isolamento do patógeno feito pelo método de isca de cenoura (Moller *et al.*, 1968). Para tanto, segmentos de caule infectado foram depositados sobre discos de cenoura, após desinfestação superficial com álcool 70%, hipoclorito de sódio (2,0% de cloro ativo) e lavagem com

água destilada estéril, depois foi feito o “sanduíche” dos tecidos infectados com discos de cenouras. As amostras foram incubadas em gerbox esterilizado, em temperatura de 25°C por 5 dias. O isolamento do patógeno foi realizado apenas em 3 árvores com a finalidade de constatar o agente patológico, as demais árvores foram avaliadas apenas visualmente através dos sintomas.

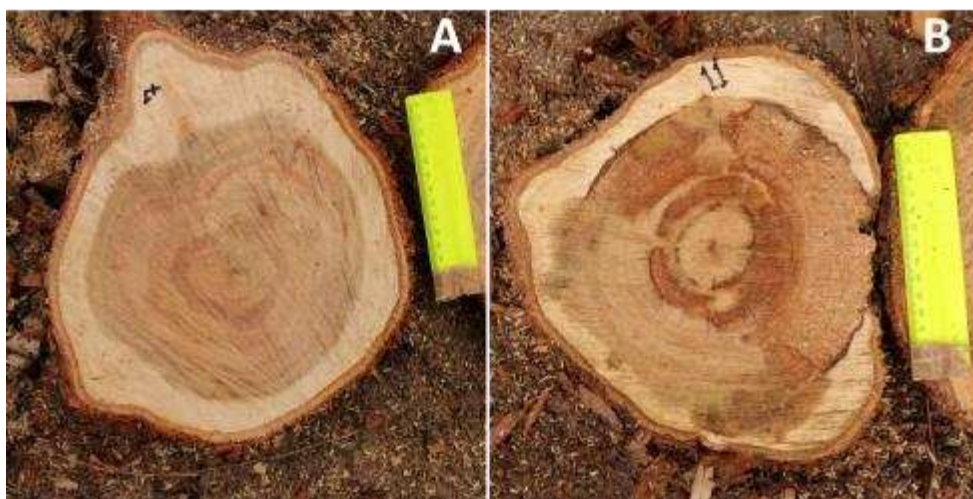


Figura 3 – Vista detalhada de corte em árvore classificada como A) sadia, B) doente com sintomas da murcha-de-ceratocystis. Fonte: O Autor (2021).

Os discos coletados foram transformados em cavacos e secos em estufa solar por 52 dias até adquirirem peso constante. A densidade foi obtida através do método gravimétrico (balança hidrostática) que se baseia no volume de deslocamento quando o material saturado é imerso na água. Para a determinação da densidade básica os cavacos foram envolvidos por uma rede de polietileno que não absorve água (rede para frutas) e a sequência de operações da seguinte forma:

- 1) Peso da rede quando submerso em água.
- 2) Peso seco da rede.
- 3) Peso imerso da rede e cavacos.
- 4) Peso ao ar da rede e cavacos saturados;
- 5) Peso seco em estufa da rede e cavacos.

A densidade básica é calculada pela seguinte fórmula:

$$ds = \frac{(5) - (2)}{(4) - \{(3) - (1)\}}$$

Após a determinação da densidade da madeira os dados foram comparados com os dados obtidos com o resistógrafo e avaliado se possuem diferença significativa, tanto entre plantas doentes quanto entre plantas sadias.

4.3 Correlação entre o percentual de perda de densidade e o percentual de área de colonização do lenho

O percentual de perda de densidade correlacionado com o percentual de lenho infectado foi realizado através da análise dos dados obtidos com o resistógrafo e a área de colonização do lenho com sintoma típico de *C. fimbriata* obtido com o processamento das imagens no software ImageJ®. As imagens foram processadas mensurando a área basal do toco e a área de lenho colonizado com a doença, indicando o percentual de lenho sadio e o percentual de lenho doente. Os dados de densidade obtidos com o resistógrafo foram comparados em função desta variável no software de análises estatísticas Minitab® Statistical Software sob a licença de uso para Veracel Celulose S/A.

4.4 Validação do método

No mesmo talhão onde foi realizado a coleta de material para comparação entre análise da densidade básica com balança e o uso do resistógrafo, foram selecionadas 100 plantas em parcela de 25 plantas por 4 linhas de plantio, excluindo área de bordadura com no mínimo 20 plantas em relação a estradas e aceiros evitando efeitos de borda. Todas as árvores foram perfuradas com o uso do resistógrafo para obtenção da densidade na altura de 20 cm em relação ao solo e abatidas com uso de motosserra na mesma altura para verificação da presença do escurecimento do lenho provocada pela doença. Também foram obtidas imagens para processamento e análise do percentual de área colonizada pelo fungo. Os dados foram analisados buscando a correlação da variação da densidade obtida com o resistógrafo e o percentual de colonização do lenho pela doença.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de densidade básica da madeira obtidas através do método de balança hidrostática comparadas ao método de avaliação à perfuração parcial do

lenho com resistógrafo não apresentaram diferença significativa no teste de médias de Tukey a 95% (TABELA 01), podendo assim os métodos serem utilizados como similares.

Tabela 1 – Comparativo de métodos para obtenção de densidade.

Densidade das amostras Kg/m³				
Tratamento	N	Média	DesvPad	p
Balança	30	483,9 A	31,2	0,70
Resistógrafo	30	480,9 A	28,7	

Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes

Fonte: O autor (2022).

As tendências de variação da densidade da madeira podem ser diferentes para o eucalipto ao longo da altura e diâmetro, ao avaliar diferentes espécies e idades (Pádua, 2009), sendo assim, possivelmente a correlação entre os métodos é evidente, devido a porção coletada para densidade ser a mesma porção de lenho mensurada com o resistógrafo, apresentando uma correlação positiva r de Pearson forte de 0,761.

A forte correlação da densidade obtida com os dois métodos também foi observada analisando árvores sadias separadamente de árvores doentes, sendo que, foram consideradas sadias, árvores com menos de 5% de área manchada pela doença, foram desconsideradas manchas não atribuídas à *C. fimbriata*.

Tabela 2 – Correlação entre os métodos em relação à sanidade.

Correlação r Pearson Sadias n=17	
Densidade Resistógrafo	Densidade Balança 0,822
Correlação r Person Doentes n=13	
Densidade Resistógrafo	Densidade Balança 0,692

Fonte: O autor (2022).

Também não foram observadas diferenças estatísticas entre plantas sadias ou doentes na densidade obtida tanto pelo método gravimétrico quanto com uso do resistógrafo, a princípio demonstrando que não existe diferença significativa no comparativo do teste de médias Tukey a 95%. (TABELA 3).

Tabela 3– Teste de médias densidade básica da madeira 30 plantas.

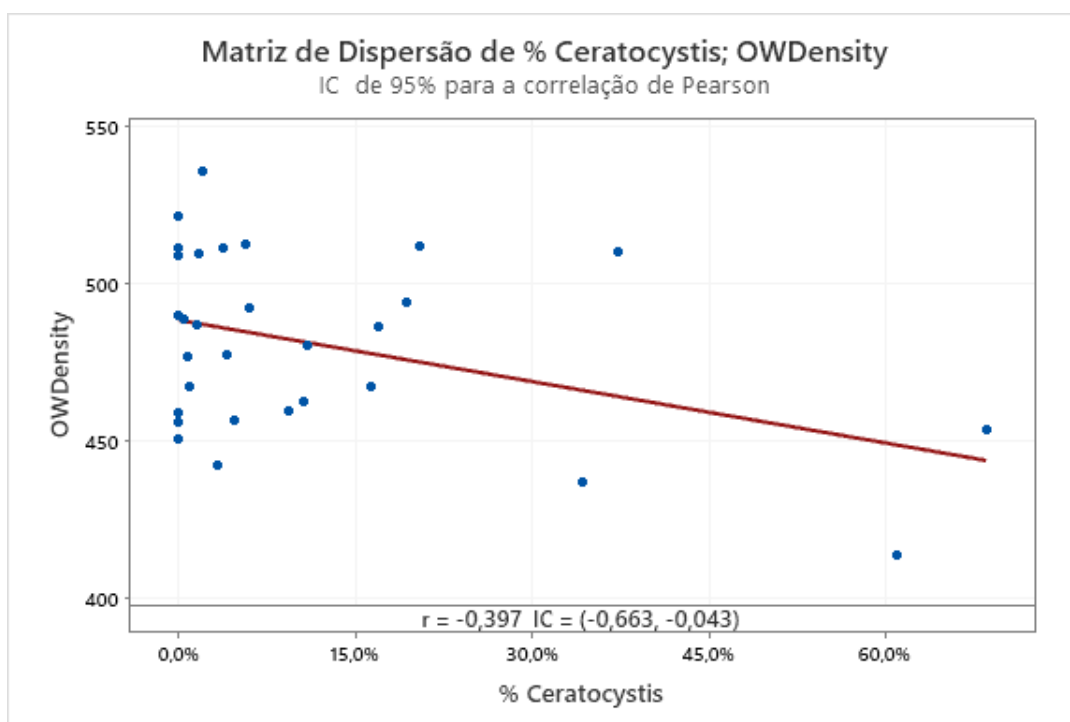
Densidade das amostras Kg/m ³				
Tratamento	N	Média	DesvPad	p
Balança Sadia	17	492,01 A	27,21	0,472
Resistógrafo Sadia	17	485,15 A	27,71	
Balança Doente	13	473,23 A	33,83	0,870
Resistógrafo Doente	13	475,30 A	30,11	

Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes

Fonte: O autor (2022).

Na análise de dispersão entre a densidade básica (OWDensity) e o percentual de área de lenho colonizado pelo fungo *C. fimbriata* (% Ceratocystis) (FIGURA 4) foi possível estabelecer uma correlação ρ de Pearson negativa fraca de $-0,397$, onde quanto maior o percentual de colonização do lenho, menor a densidade básica da madeira.

Figura 4 – Matriz de dispersão densidade básica em relação a colonização do lenho por *C. fimbriata* 30 plantas.



Fonte: O autor (2022).

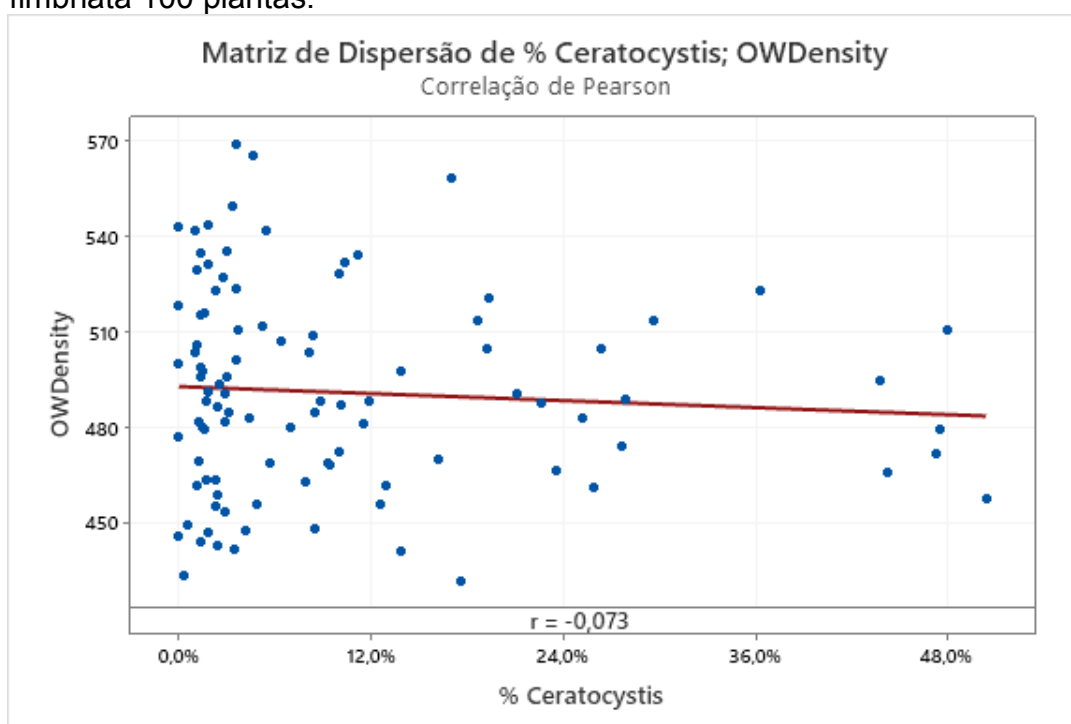
Como não foram observadas diferenças significativas entre as densidades obtidas com uso do método gravimétrico com balança hidrostática e o uso resistógrafo, a obtenção de densidade das outras plantas foram realizadas apenas com uso do resistógrafo.

As árvores foram selecionadas em parcela fixa de 4 linhas por 25 plantas no total de 100 plantas. Utilizando o mesmo critério anterior onde foram consideradas

doentes plantas com mais de 5% de área do lenho colonizadas por *C. fimbriata*. Foram classificadas 46 plantas doentes (5% a 50% de área de lenho colonizado) e 54 plantas sadias (0% a 5% de área de lenho colonizado), manchas não relacionadas a *C. fimbriata* foram desconsideradas

Assim como na população avaliada anteriormente a análise de dispersão entre a densidade básica (OWDensity) e o percentual de área de lenho colonizado pelo fungo *C. fimbriata* (% Ceratocystis) (FIGURA 5) foi possível estabelecer uma correlação p de Pearson negativa, porém, nesta amostra muito fraca, e não significativa -0,073, onde quanto maior o percentual de colonização do lenho, menor a densidade básica da madeira.

Figura 5 – Matriz de dispersão densidade básica em relação a colonização do lenho por *C. fimbriata* 100 plantas.



Fonte: O autor (2022).

Também não foram observadas diferenças estatísticas entre plantas sadias ou doentes na densidade demonstrando que não existe diferença significativa no comparativo do teste de médias Tukey a 95%. (TABELA 4).

Tabela 4– Teste de médias densidade básica da madeira 100 plantas.

Densidade das amostras Kg/m ³				
Tratamento	N	Média	DesvPad	p
Árvores Sadias	54	492,66 A	34,45	0,552
Árvores Doentes	46	488,89 A	27,59	

Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes

Fonte: O autor (2022).

Alguns trabalhos relatam a perda de densidade básica em lenho de *Eucalyptus* infectado por *C. fimbriata* em valores de variam de 8% (Mafia *et al.*, 2013) até 10% (Araújo *et al.*, 2007) entretanto, outros trabalhos publicados relatam não terem encontrado perda de densidade básica em árvores infectadas pela doença em diversos sítios (Fernandes *et al.*, 2014). (TABELA 5).

Tabela 5– Dados para plantas saudáveis e plantas infectadas por *Ceratocystis fimbriata* nos quatro locais.

Localização	Condição	Densidade básica
Paraopeba	Sadia	0.475 (0.42) A
	Infectada	0.475 (0.48) A
João Pinheiro	Sadia	0.454 (0.39) A
	Infectada	0.470 (0.41) A
Bocaiúva	Sadia	0.511 (0.51) A
	Infectada	0.508 (0.54) A

Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes

Fonte: Fernandes *et al.* (2014).

A densidade básica apresenta diversos níveis de variação: variação entre espécies, entre indivíduos de mesma espécie e inclusive em diferentes posições dentro de um fuste. Tal variabilidade é devido ao tipo, forma e organização celular da madeira, que por sua vez sofre influência genética, ambiental, da idade do indivíduo, entre outras (Panshin *et al.*, 1980). A própria variação natural de densidade entre os indivíduos de uma mesma população pode ocultar valores de perda de densidade baixos provocados pela doença.

Um limitado número de ascomicetos pode colonizar a madeira através de canais de resina parenquimáticos como *C. fimbriata* causando escurecimento dos tecidos das madeiras moles, mas uma degradação muito limitada, que afeta principalmente materiais solúveis em água (Eriksson, 1990).

Foi observado que o uso do resistógrafo de forma massal, antes do período pré-corte da floresta pode representar um risco, possibilitando a disseminação de *C. fimbriata*, uma vez que a broca utilizada para a mensuração reteve partículas de lenho

assim como o mandril que à segura (FIGURA 6) que podem estar infectadas com a doença apesar desta hipótese não ter sido testada, sendo assim, seu uso é recomendado apenas em populações restritas, ou quando o plantio estiver próximo da colheita prevenindo possíveis disseminação com infecção não intencional.



Figura 6 – Resíduo de lenho após mensuração com resistógrafo. A) Broca, B) Mandril

6. CONCLUSÕES

O resistógrafo pode ser utilizado para obtenção de densidade básica em povoamentos florestais não apresentando diferenças significativas quando comparado ao método convencional de gravimetria em balança hidrostática.

Independentemente do percentual de área colonizada em lenho de eucalipto por *C. fimbriata* esta parece não interferir, ou interfere em baixa magnitude na densidade básica da madeira afetando apenas no processo fisiológico das plantas.

O resistógrafo não é recomendado como método não destrutivo para identificação de árvores infectadas por *C. fimbriata*.

REFERÊNCIAS

- ABRAF. Associação Brasileira De Produtores De Florestas Plantadas. 2013. Anuário Estatístico Da ABRAF: Ano Base 2012. Brasília, 148p.
- Ake S.; *et al.* 1992. Fimbriatan, uma proteína de *Ceratocystis fimbriata*. Fitoquímica, 31(4):1199-1202.
- Alami I.; Maria S; Trivet A., 1998. Uma glicoproteína de *Ceratocystis fimbriata* f.sp. platani desencadeia a síntese de fitoalexinas em culturas de suspensão de células *Platanus x acerifolia*. *Phytochemistry*, 48(5):771-776; 26 ref.
- Alfenas, A. C.; *et al.* 2016. Métodos em fitopatologia. Viçosa: Editora UFV, 516p.
- Alfenas, A.C.; *et al.* 2009 Clonagem e Doenças do Eucalipto. 2. ed. Viçosa: Editora UFV. 500p.
- André C. Silva; *et al.* 2020. Responses of resistant and susceptible hybrid clones of *Eucalypturophylla* × *Eucalyptus grandis* to infection by *Ceratocystis fimbriata* *Annals of Forest Science* 77: 45.
- Araújo, J. C. P.; *et al.* 2007. Influência da madeira com fungo *Ceratocystis fimbriata* no processo de produção de celulose e qualidade da celulose. Artigo técnico. O papel.
- Arbelaez G.E. 1957. (La llaga macana del tronco del cacao). In: *Acta Agronômica*, Palmira, 7 71-103.
- Baker C.J.; *et al.* 2003. Variabilidade genética e especialização de hospedeiros no clado latino-americano de *Ceratocystis fimbriata*. *Fitopatologia*, 93:1274-1284.
- Bezerra J.L. 1997. *Ceratocystis fimbriata* causando morte de plântulas de cacauero na Bahia, Brasil. *Boletim Incoped*, 1:6.

CABI, 2022. Compêndio de Espécies Invasoras. Wallingford, Reino Unido: CAB International. www.cabi.org/isc.

Coral F.J.; Bovi O.A.; Ribeiro I.J.A. 1984. Ação de *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst., isolados de vários hospedeiros, em plântulas de cacau. *Bragantia*, 43(1):245-248.

Crone J.L. 1963. Sintomas, propagação e controle da mancha de cancro em plátanos. *Resumos de Dissertação*, 23:1857-1858.

EPPO/CABI. *Ceratocystis fimbriata* f. sp. platani. In: Quarantine pests for Europe. 2.ed. Wallingford: CAB International, 1997. p.674-677.

Eriksson K.E. Biotechnology in the Pulp and paper industry. *Wood Sei. Technol.* V. 24, p. 79-101, 1990.

Desrosiers R.; Diaz J. 1956. A distribuição mundial de doenças do cacau. In: Reunio do Comitê Técnico Interamericano de Cacau. Bahia, 20-27 de maio de 1956, 331-341.

Dias, D. C; *et al.* 2017. Uso da técnica de resistografia e de variáveis dendrométricas na modelagem da densidade básica de povoamentos clonais de *Eucalyptus*. *Ciência Florestal*, v. 27, n. 2, p. 609-619.

Echandi E.; Segall R.H. 1956. Cancro do tronco, galho e caule de cafeeiros. *Repórter de doenças de plantas*. 40 (10), 916-918 pp.

Eriksson, K. E. L; Blanchette R. A.; Ander P. 1990. Microbial and enzymatic degradation of wood components. Springer-Verlag, Berlin.

Fernandes, B. V; *et al.* 2014. Damage and Loss Due to *Ceratocystis fimbriata* in *Eucalyptus* Wood for Charcoal Production. *BioResources*, p. 5473-5479.

Ferreira F. A.; *et al.* 2006. Sintomatologia da murcha de *Ceratocystis fimbriata* em eucalipto. *Rev. Árvore* 30:155–162.

Ferreira, M. A.; Alfenas, A. C.; Mafia, R. G. 2013. *Ceratocystis fimbriata* em espécies florestais e agrônômicas no Brasil. In. Patologia florestal: Desafios e perspectivas. 1 ed. Lavras, MG: NEFIT, v. 1, p. 75-101.

Giraldo E. 1957. La llaga macana del tronco del cacao. *Acta Agronomica*, 7:71-103.

Harrington T.C.; 2000. Especialização e especiação do hospedeiro no patógeno americano *Ceratocystis fimbriata*. *Fitopatologia Brasileira*, 25S:262-263.

Harrington T.C.; McNew DL, 1997. Autofertilidade e comutação unidirecional do tipo de acasalamento em *Ceratocystis coerulescens*, um ascomiceto filamentoso. *Current Genetics*, 32(1):52-59; 39 ref.

Hu F.P.; *et al.* 1999. Causas da podridão negra e da raiz amarga da batata-doce em Liancheng, Fujian. *Jornal da Universidade Agrícola de Fujian*, 28:441-444.

Hunt J.; 1956. Taxonomia do Gênero *Ceratocystis*. *Lloydia*, 19:1-59.

IBÁ. Indústria Brasileira de Árvores. Relatório Anual 2016 IBÁ: Ano Base 2016. Brasília, 100p.

IBGE. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/2040-np-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html?&t=resultados>. 2019.

Iton E.F. 1960. Estudos sobre a murcha do cacau em River Estate. II. Alguns aspectos da transmissão do vento. In: Relatório Anual de Pesquisa do Cacau, 1959-1960. Santo Agostinho, Trinidad: Imperial College of Tropical Agriculture, University of the West Indies, 47-58.

Johnson J.A.; *et al.* 2002. Aozima e análise de sequência de DNA de isolados de *Ceratocystis fimbriata* revelam agrupamentos geográficos e linhagens associadas ao hospedeiro. *Fitopatologia*, 92: S40.

Kojima M. Uritani I. 1976. Possível envolvimento de fitoalexinas furanoterpenóides no estabelecimento da especificidade parasita-hospedeiro entre batata-doce e várias cepas de *Ceratocystis fimbriata*. *Patologia Fisiológica de Plantas*, 8(1):97-111.

Laia M.L.; Alfnas A.C.; Harrington T.C. 2000. Isolamento, detecção em solo e inoculação de *Ceratocystis fimbriata*, agente causal de murcha, morte e cancro em eucalipto (Abstr.). *Fitopatologia Brasileira*, 25:384.

Mafia, R. G; *et al.* 2013. Impact of *Ceratocystis* wilt on eucalyptus tree growth and cellulose pulp yield. **Forest Pathology**, v. 43, n. 5, p. 379-385.

Malaguti G. 1952. Una podredumbre del tallo de crotalaria juncea, feito por *Ceratostomella fimbriata*. *Agronômica Tropical, Maracay*. 287-292.

Mizukami T. 1951. Comparação da patogenicidade de *Ceratostomella fimbriata* e *Endoconidiophora* sp. fungo causal da podridão negra do taro, em batata-doce e taro. *Boletim Científico da Faculdade de Agricultura, Universidade Kyushu*, 12:5-9.

Moller W.J.; DeVay J.E. 1968. Transmissão por insetos de *Ceratocystis fimbriata* em pomares de frutas decíduas. *Fitopatologia*, 58:1499-1508.

Moller, W.J. & De Vay, J.E. Carrot as a species-selective isolation medium for *Ceratocystis fimbriata* *Phytopathology* 58:123-124. 1968.

Moller W.J.; DeVay J.E.; Backman P.A. 1969. Efeito de alguns fatores ecológicos no cancro de *Ceratocystis* em frutos de caroço. *Fitopatologia*, 59:938-942.

Olson E.O.; Martin WJ. 1949. Relação de *Ceratostomella fimbriata* da seringueira *Hevea* e batata-doce. *Fitopatologia*, 39:17.

Pádua, F. A. 2009. Amostragem para avaliação da densidade básica da madeira de um híbrido de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden x *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake. 2009. 99 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia da Madeira) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Panshin A.J.; Zeeuw C. 1980. Textbook of technology. 4th ed. New York: McGraw Hill; 705 p.

Paulin-Mahady A.E.; Harrington T.C.; McNew D., 2002. Avaliação filogenética e taxonômica de anamorfos Chalara, Chalaropsis e Thielaviopsis associados a Ceratocystis. Mycologia, 94(1):62-72.

Pontis R.E. 1951. Cancro do cafeeiro na Colômbia e Venezuela. Fitopatologia, 41:178-184.

Reyes L.C. 1988. Necrosis del tronco y ramas del cacao en Venezuela. 10ª Conferência Internacional de Investigação em Cacao, Venezuela, 485-489.

Ribeiro I.J.A.; Coral F.J. 1968. Estudo preliminar da atpo do fungo Ceratocystis fimbriata Ell. e Halst., causador da seca da mangueira (Mangifera indica L.), sobre cacauzeiros (Theobroma cacao L.). Bragança, 27:87-89.

Rinn, F. 2012. Basics of micro-resistance drilling for timber inspection. Holztechnologie, v. 53, n. 3, p. 24-28.

Rossetto C.J.; Ribeiro I.J.A. 1990. Mango murcha. XII. Recomendações para controle. Revista de Agricultura (Piracicaba), 65(2):173-180.

Roux J.; *et al.* 2001. Variação genética no patógeno Ceratocystis albofundus. Mycoscience, 42(4):327-332.

Roux J; *et al.* 2000. Uma nova e grave doença de murcha do Eucalyptus causada por Ceratocystis fimbriata na África Central. Forest Pathology, 30(3):175-184.

Silva, J. G. M. 2019. Aplicação da resistografia na estimativa da densidade e umidade da madeira em árvores jovens de eucalipto. 2019. 104 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo.

Sinclair W.A.; Lyon H.H.; Johnson W.T. 1987. Doenças de árvores e arbustos. Ithaca, Nova York, EUA: Cornell University Press, 574 pp.

Spence J.A. 1958. Observações preliminares sobre uma condição de murcha do cacau. Com. Caribe Publ. Serviço de Câmbio, Cacau nº 76.

Teviotdale B.L.; Harper D.H. 1991. Infecção de poda e pequenas feridas de casca em amêndoa por *Ceratocystis fimbriata*. Doença de Planta, 75(10):1026-1030.

Vogelzang B.K.; Scott ES. 1990. *Ceratocystis fimbriata*, agente causal da podridão basal de cultivares de *Syngonium*, e estudos de gama de hospedeiros de isolados de *C. fimbriata* na Austrália. Patologia Vegetal da Australásia, 19:82-89.

Walker J.; *et al.* 1988. Podridão basal de cultivares *Syngonium* e o primeiro registro de *Ceratocystis fimbriata* da Austrália. Patologia Vegetal da Australásia, 17(1):22-23.

Wellman F.L.; 1972. Tropical American Plant Diseases. Metuchen, Nova Jersey, EUA: Scarecrow Press.

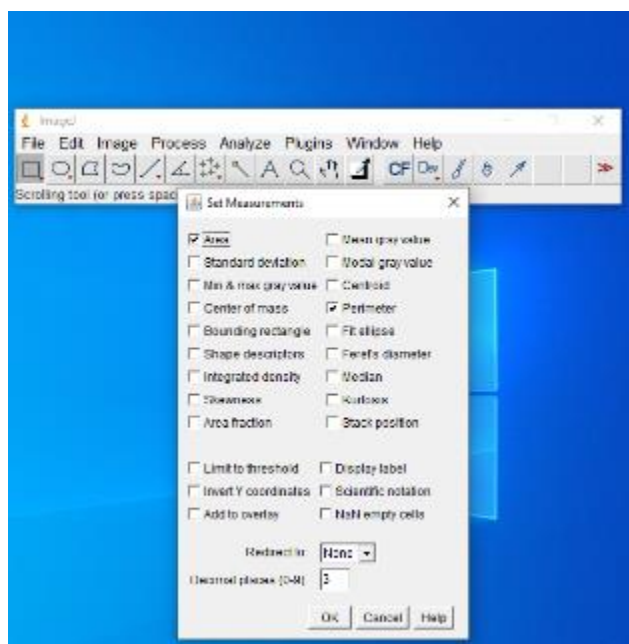
Withthuhn R.C.; *et al.* 2000. Deleção do gene do tipo de acasalamento MAT-2 durante a troca de tipo de acasalamento unidirecional em *Ceratocystis*. Current Genetics, 38:48-52.

APÊNDICE A – TUTORIAL PARA PROCESSAMENTO DE FOTOS PARA DETERMINAÇÃO DE ÁREAS AFETADAS POR CERATOCYSTIS NO SOFTWARE IMAGEJ

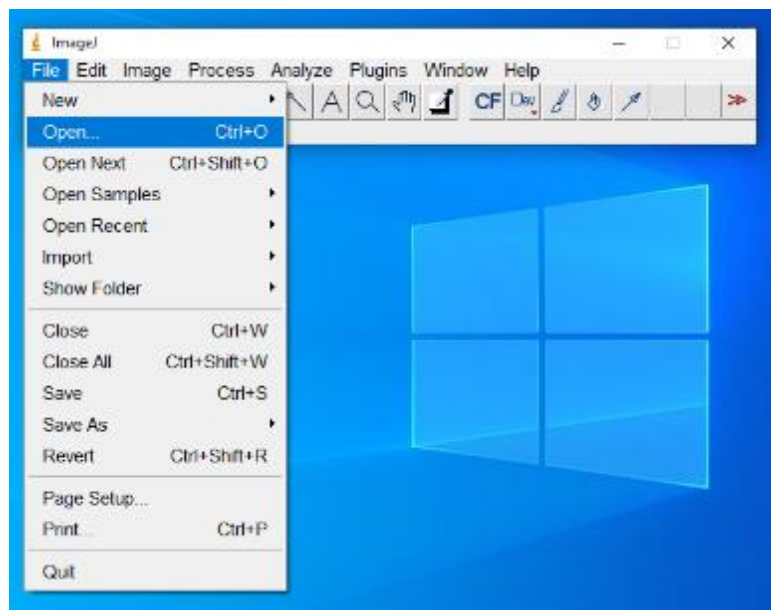
Processar uma imagem significa modificar ou extrair suas informações. Neste caso queremos extrair informações por meio da mensuração de áreas nas imagens obtidas com o software ImageJ. ImageJ é um programa de processamento de imagem Java de domínio público e pode ser baixado e utilizado gratuitamente no site <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>. O objetivo deste tutorial é oferecer metodologia de mensuração de áreas de lenho afetadas por *Ceratocystis fimbriata*.

Após a instalação do ImageJ, o software pode ser acessado e o processo de análise de imagens iniciado, conforme sequência:

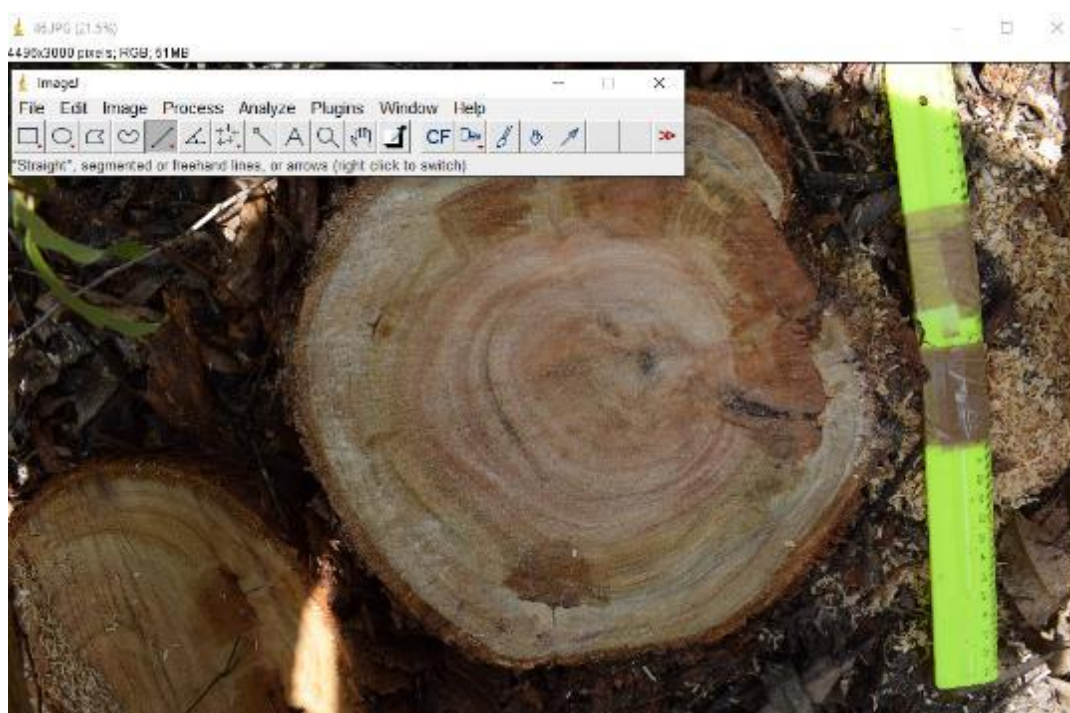
Antes de selecionar a imagem à ser analisada são necessários alguns ajustes de dados a serem obtidos e escala. Abrir o software e clicar em “Analyze”, após selecionar a opção “Set Measurements...” e selecionar os dados de interesse, no caso “Area” e “Perimeter”.



Após o ajuste de dados clicar em “File”, após selecionar a opção “Open...” e selecionar a pasta contendo as imagens a serem analisadas. As imagens são analisadas individualmente.

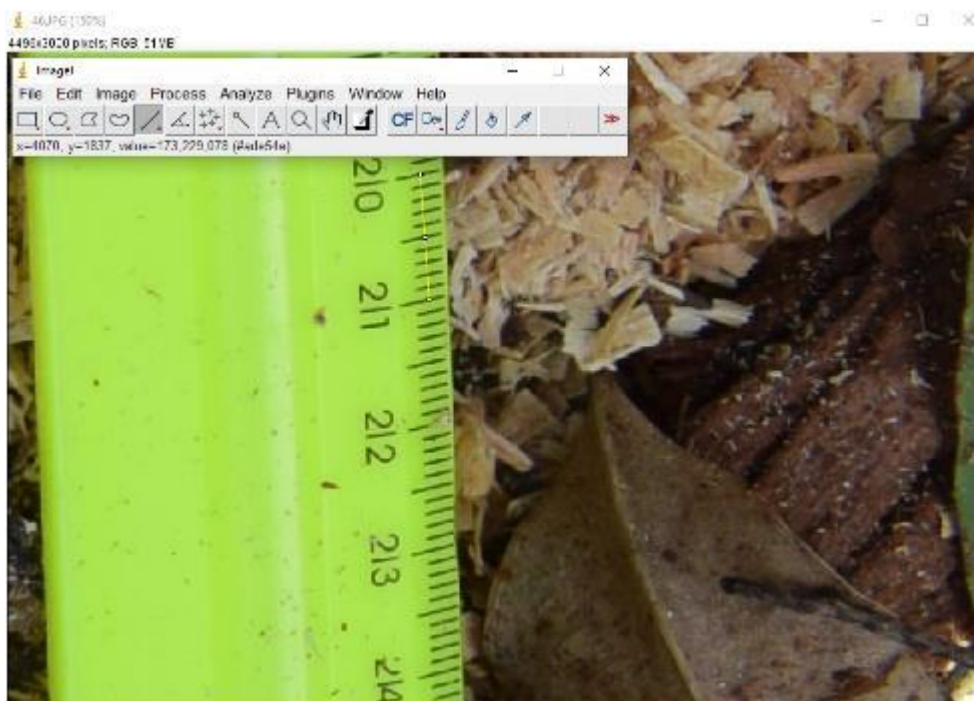


Para que o software consiga associar o número de pixels a um tamanho específico em centímetros é necessário ajustar a escala da imagem, sendo assim, é muito importante a obtenção de imagens contendo objetos de tamanho conhecido como por exemplo uma régua graduada. Após selecionar a imagem clicar no botão “Straight” representado como uma reta.

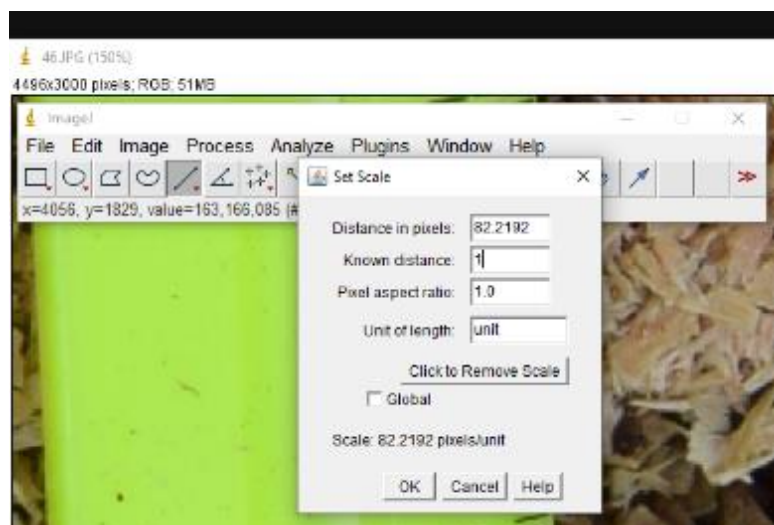


Deve-se aumentar a imagem utilizando a ferramenta lupa e realizar a marcação de uma reta em um ponto com dimensões conhecidas, na imagem abaixo

foi marcada uma reta do tamanho de 1,0cm presente na graduação da régua presente na imagem.



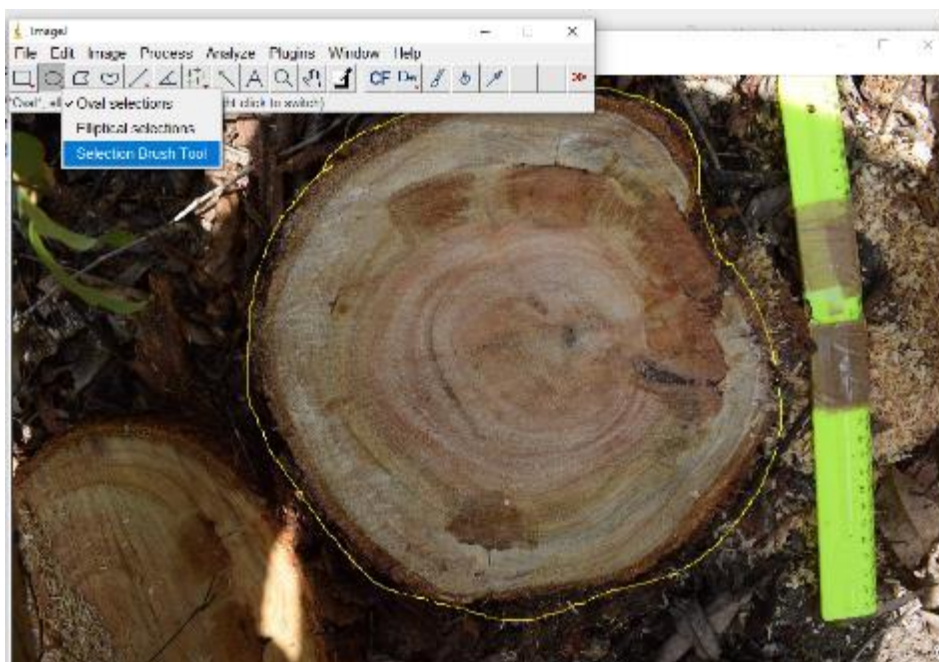
Após marcar a reta no objeto de dimensões conhecidas é necessário ajustar os parâmetros de medição no software. Clicar em “Analyze” e selecionar a opção “Set Scale...” estabelecendo assim a escala. No campo “Known distance” inserir o tamanho da reta imposta sobre o objeto de tamanho conhecido, no caso foi desenhada uma reta com 1,0 cm de comprimento. Importante que esta escala seja ajustada individualmente em cada imagem, principalmente pois a altura da foto em relação ao toco pode variar ligeiramente por se tratar de situação de campo.



Determinada a escala, a mensuração da imagem pode ser iniciada, primeiramente demarcando a área total do toco e posteriormente selecionando a área

afetada. Podemos usar a ferramenta de desenho “Free hand” para executar a marcação dos perímetros tanto do toco quanto das manchas de interesse.

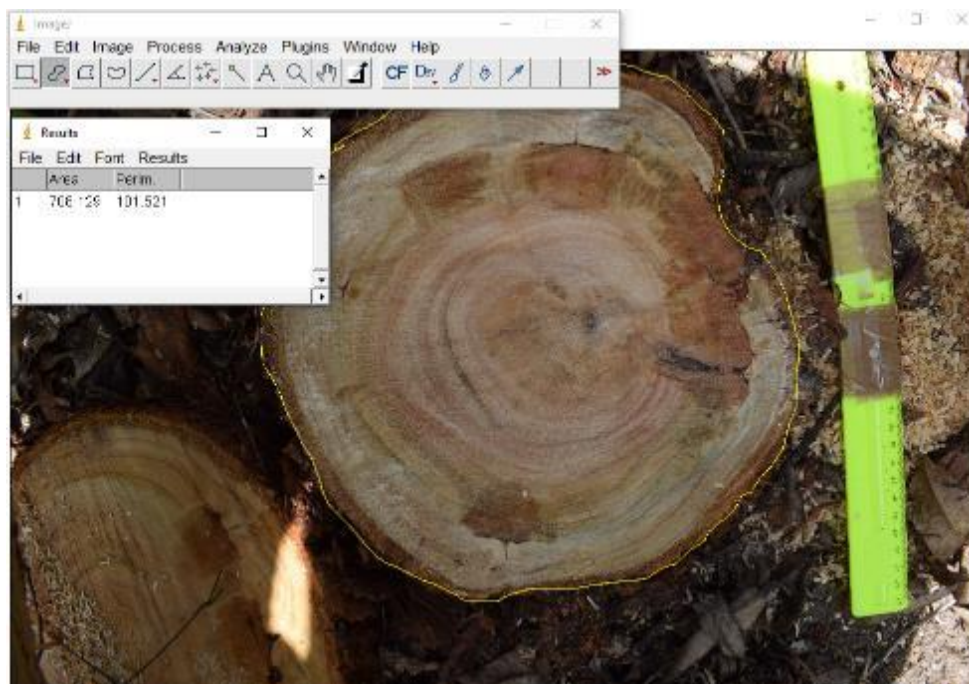
Pode ser desenhada uma linha menos precisa com a ferramenta “Free hand” e posteriormente ajustada com o formato “Oval” na opção “Selection Brush Tool”, ajustando a linha para ficar aderente à imagem do toco



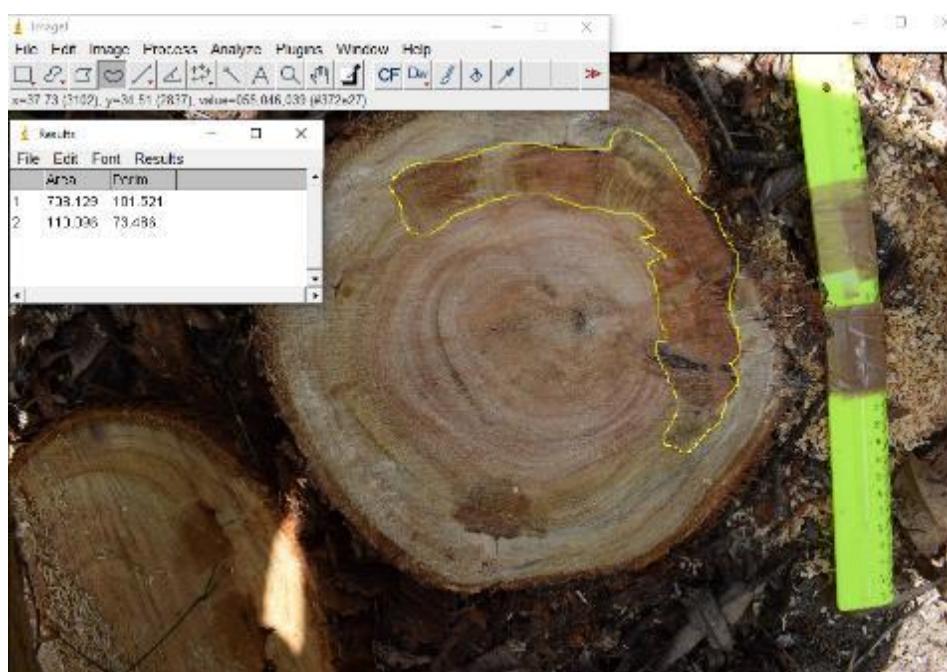
Ajustes após o uso da ferramenta “Selection Brush Tool”.



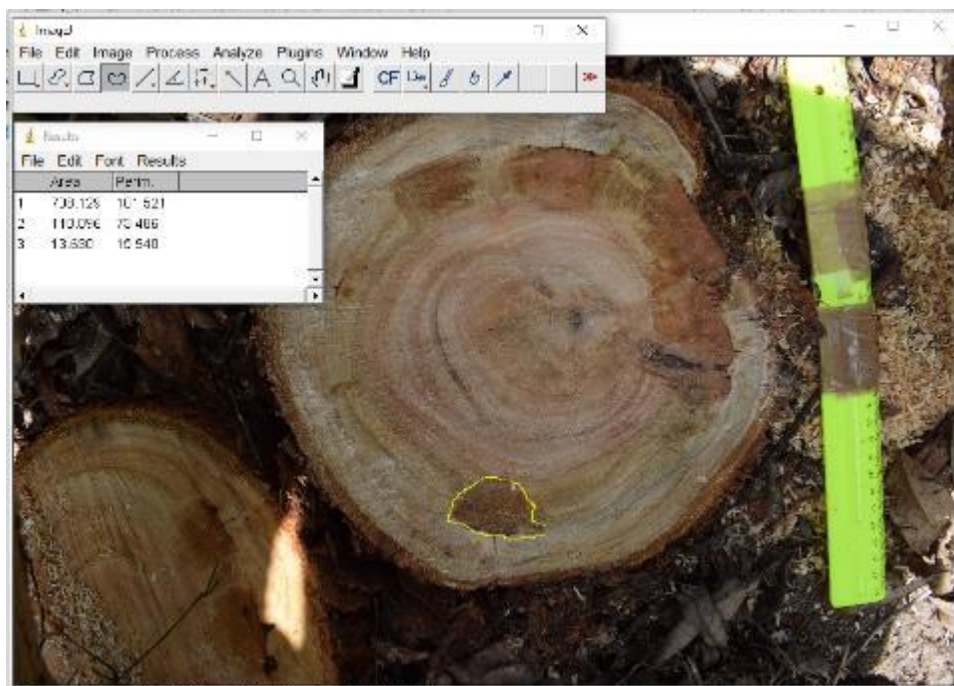
Para obter a área em cm^2 e o perímetro em cm, basta clicar em “Analyze” e depois em “Measure” que uma caixa de comunicação será aberta com os dados.



Após a mensuração da área do toco, podemos prosseguir com a medição das áreas lesionadas executando o mesmo processo.



Quando houver mais de um segmento de lesão é necessário que a mensuração seja realizada separadamente.



Os dados da tabela “Results” podem ser exportados para uma planilha CSV para posterior análise das informações geradas. Clicar em “File” depois em “Save as...” e escolher o local onde o arquivo deve ser salvo. É possível processar todas as imagens antes de exportar o arquivo bastando repetir todos os outros passos anteriores.