UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS CENTRO DE ESTUDO SUPERIORES DE ITACOATIARA CURSO BACHARELADO EM ENGENHARIA FLORESTAL

ELIANA DOS SANTOS LOPES

LEVANTAMENTO DE DOENÇAS FOLIARES DE NATUREZA FÚNGICA EM ÁREAS DE PLANTIOS DE Acacia mangium Willd. e Eucalyptus urograndis NO MUNICÍPIO DE ITACOATIARA – AM **ELIANA DOS SANTOS LOPES**

LEVANTAMENTO DE DOENÇAS FOLIARES DE NATUREZA FÚNGICA EM

ÁREAS DE PLANTIOS DE Acacia mangium Willd e Eucalyptus urograndis NO

MUNICÍPIO DE ITACOATIARA - AM

Monografia apresentada ao Curso de

Engenharia Florestal do Centro de Estudos

Superiores de Itacoatiara, da Universidade

do Estado do Amazonas, como parte dos

requisitos para obtenção do título de

Engenheira Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Ananias Alves Cruz

Co-orientador: M.Sc. Daniel Ferreira Campos

Itacoatiara- AM

2017

ELIANA DOS SANTOS LOPES

LEVANTAMENTO DE DOENÇAS FOLIARES DE NATUREZA FÚNGICA EM ÁREAS DE PLANTIOS DE Acacia mangium willd e Eucalyptus urograndis NO MUNICÍPIO DE ITACOATIARA – AM

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Florestal do Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara, da Universidade do Estado do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Florestal.

Banca Examinadora:
Prof. Dr. Ananias Alves Cruz (Orientador)
Prof. M.Sc. Daniel Ferreira Campos(Co-orientador)
Prof. Dr. Louri Klemann Junior

Itacoatiara (AM), 08 de dezembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Raimundo Marques Lopes (*in memorian*) e Maria Feliciana dos Santos; à minha filha Cleidiane Lopes; à meu esposo Antônio Freitas; à minha madrinha Elza e à minha amada tia Nair Marques.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder o dom da vida, por estar sempre a meu lado agindo e realizando milagres dos quais pude testemunhar, no decorrer de minha vida;

À Universidade do Estado do Amazonas - UEA, por oferecer o curso o qual pude ter o prazer de concluir, por todo suporte dado a todos os acadêmicos, que assim como eu vindos do interior:

A todos os docentes do curso de Engenharia Florestal do Centro de Estudos Superiores de Itacoatiara (CESIT), que compartilharam seus conhecimentos com dedicação e afinco e contribuíram decisivamente para a minha formação profissional; especialmente os professores: Andreza Mourão, Afrânio Melo, Ananias Cruz, Anízio Cavalcante, Ângela Mendes, Daniel Campos, Deolinda Rodrigues, Eduardo Mafra, Fábio Bassini, Fernando León, Giuliano Piotto, Heric Pohl, João Bosco, Juan Daniel, Luís Antônio, Luís Enrique, Márcia Bananeira, Mário Humberto, Melissa Chalco e Narciso Cardoso (in memorian), que me propiciaram chegar a minha formação.

À direção e todos os funcionários do CESIT.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), por ter cedido o Laboratório de Fitopatologia, para realização deste trabalho;

Ao meu orientador, Professor Dr. Ananias Alves Cruz, pela orientação, paciência, oportunidade, confiança, incentivo, apoio e por todo o conhecimento compartilhado. Por sua presença em todas as fases do desenvolvimento deste trabalho, quer nas atividades de laboratório quer nas atividades de campo;

Ao Dr. Rogério Eiji Hanada, pela orientação durante o Estágio Supervisionado;

Ao Luiz Alberto Guimarães de Assis, pesquisador, M.Sc. responsável pelo Laboratório de Fitopatologia do INPA, pelos prestimosos ensinamentos e ajuda em todo decorrer do presente trabalho;

À Marilene Maia Braga, técnica de Laboratório de Fitopatologia do INPA, por sugestões, apoio, ajuda na preparação dos meios de cultura durante a execução do trabalho;

Ao Antônio Valzenir de Albuquerque, motorista que nos conduziu em segurança em nossas viagens e, e pela ajuda na coleta das amostras;

À senhora, minha mãe, minha rainha, meu ar, meu exemplo de vida, meu alicerce, a responsável por tudo que hoje sou. Dedico todo o meu sonho, meu objetivo de vida à senhora que me ensinou a importância da construção dos meus próprios valores, nunca me deixou desistir e com seu amor me deu forças quando estas me faltaram;

A meu padrasto e compadre José Edson Paredes Nery por ter sido um paizão durante todos esses anos. Por todo amor compartilhado em família, por ajudar minha mãe a cuidar e educar minha filha, nesses anos de ausência, durante o decorrer do curso. Tenho certeza que Deus escolheu e usou vocês para transformar minha filha na mulher em que se transformou. Obrigada, pai! Agradeço a Deus por ter posto o senhor em nossas vidas;

A você filha, razão do meu viver. Você foi e sempre será a fonte das minhas motivações para acreditar e realizar meus sonhos. Obrigada por confiar em minha capacidade de enfrentar os desafios e concluir mais esta etapa de nossa vida. Sem você não teria conseguido;

A meu esposo Antônio Raimundo França de Freitas, pela paciência, por ter compreendido como ninguém a fase pela qual estava passando, pelos conselhos nos momentos mais difíceis, por estar sempre ao meu lado, me incentivando a cada vontade de desistir, por entender minha ausência, tentando sempre estar perto com seu carinho e amor demonstrados em todo trajeto deste trabalho. Anjo que Deus enviou para cuidar de mim. AMO-TE CADA DIA MAIS:

Aos meus irmãos Antônio Carlos dos Santos, Alberto Lopes, Edinelza Souza, Edson dos Santos, Elisângela dos Santos, Euzébio Lopes (*in memorian*), Francisca Dias, Jairo Lopes, Lunalva Lopes, Luzia Lopes, pelo apoio, por compartilhar momentos bons e ruins. Que Deus continue nos abençoando, tenho certeza que tudo vai passar. Desejo o melhor de Deus na vida de cada um de vocês;

Ao tio Coronel Sampaio e a tia Terezinha por comprar meu notebook para que eu pudesse utilizar durante o curso para realização dos trabalhos acadêmicos;

Ao pastor Paulo Henrique (IPUB-Tefé) e sua esposa, pastora Cármen, por me ensinarem a palavra da verdade e me aproximarem mais de Deus. Seus joelhos estão

sempre dobrados intercedendo a Deus por mim e Ele tem realizado grandes milagres em minha vida:

Ao professor Macuiama, que enfrentou uma batalha para que eu pudesse concluir o ensino médio. Obrigada professor, por sua insistência comigo;

Ao Dr. Antônio Branquinho, por me inscrever no vestibular, acreditando em minha capacidade de ser aprovada;

Ao primo, Arilton Marques que me proporcionou a oportunidade de ingressar na carreira acadêmica, no curso de Engenharia Florestal, com o apoio financeiro para custear transporte e habitação na cidade de Itacoatiara, minha eterna gratidão;

Ao primo, Dr. Joaquim Lopes Frazão e sua esposa Maria Eugênia Frazão, por me receberem em seu lar e me tratarem com amor e carinho, também pelo apoio, pelo companheirismo, sem o qual não teria conseguido concluir este trabalho. Por toda dedicação em tudo quanto foi preciso, para que este trabalho pudesse ser concluído, obrigada por confiarem em mim;

Ao primo, Carlos Alberto, pelo apoio na logística de transporte, quando preciso;

Ao cunhado Adelson França de Freitas, carpinteiro naval, por ter cedido amostras de várias espécies de madeira para realização de trabalhos em várias disciplinas, no decorrer do curso;

À dona Florinda, tia do meu esposo, por me hospedar em sua residência, em Manaus, para que pudesse cumprir parte do trabalho;

Ao amigo Roberto Teixeira, Engenheiro Florestal, pela ajuda na coleta do material de campo;

Aos colegas Anna Paula, Alacimar Guedes, Carolina Dantas, Edivan Pinheiro, Francisco Marinho, Gilson França (*in memorian*), Jonatas Araújo (*in memorian*), vocês jamais serão esquecidos, Jaciel Santos, Jordana Braga, Marciléia Santos, Nelson Wedge, que no decorrer do curso, tive o prazer de compartilhar momentos de alegrias e se tornaram amigos;

A todos que direta e indiretamente contribuíram no exercício deste trabalho.

EPÍGRAFE

No coração do homem há muitos planos, mas o que fica mesmo é o que Deus determina.

Provérbios 19:21

RESUMO

Acacia mangium e Eucalyptus urograndis, famílias Mimosaceae e Mirtaceae, respectivamente, são espécies florestais exóticas, naturais da Austrália. Estas espécies arbóreas se destacam pelo seu elevado potencial madeireiro e versatilidade silvicultural, e vêm sendo utilizadas como fontes energéticas nas indústrias de cerâmicas na Amazônia. A. mangium é relatada como espécie multiuso, também utilizada na recuperação de áreas degradadas. Objetivando-se caracterizar fungos parasitas nestas espécies florestais, em 2017 foi conduzido um levantamento em plantios florestais de propriedade da empresa Litiara Indústria Cerâmica da Amazônia Ltda, situada no Km 19 da Rodovia AM-010 (sentido (ITA-MAO), município de Itacoatiara-AM, sendo isolados e identificados os fungos Cylindrocladium sp., Colletotrichum sp., Phomopsis sp., Macrophoma sp. e Pestalotia sp., associados a manchas foliares distintas na espécie acácia mangio, e dois fungos não identificados (em fase de identificação) na espécie eucalipto. Foi realizado ensaio para determinação da taxa de crescimento (TCMD) de 15 isolados de A. mangium e 01 isolados de E. urograndis, utilizando colônias purificadas a partir de fragmentos de tecido apresentando sintomas típicos de doença. Entre os isolados de A. mangium, a maior TCMD foi observada para o isolado 2027A (A12,Col. 1.1). Entre os fungos identificados e testados quanto à patogenicidade, os 03 isolados de *Pestalotia* sp., juntamente com *Macrophoma* sp., apresentaram as maiores taxas de crescimento (acima de 5,48 cm no 6º dia). Cylindrocladium sp., o único isolado com reação positiva nos testes de patogenicidade, apresentou a menor taxa de crescimento (5,34 cm no 6º dia). Testes de patogenicidade foram realizados em folhas destacadas e sadias, oriundas de ramos terminais das espécies acácia mangio e eucalipto, a partir das colônias armazenadas em frascos de vidro, pelo método Castellani. O teste foi realizado em bandejas plásticas, no laboratório, depositando-se discos de BDA (Batata-Dextrose-Ágar) de 5 mm de diâmetro, com e sem o fungo, nas faces abaxial e adaxial das folhas, previamente escarificadas com agulha histológica flambada e em folhas intactas. As folhas foram mantidas em câmara úmida por 48h. Quatro dias após a inoculação, foram observados sintomas similares às manchas nas folhas com e sem escarificação, somente para 03 isolados de Cylindrocladium sp. Para os demais fungos, não foram observados sintomas típicos nas folhas de acácia mangio e eucalipto. O fungo Cylindrocladium sp. foi reisolado das manchas e novamente cultivado em BDA, completando-se os Postulados de Koch. Este é o primeiro relato da ocorrência de manchas foliares causadas por Cylindrocladium sp., em A. mangium no Brasil

Palavras-chave: Acacia mangium, Eucalyptus urograndis, Patogenicidade, manchas foliares, TCMD.

ABSTRACT

Acacia mangium and Eucalyptus urograndis, Mimosaceae and Mirtaceae families, respectively, are exotic, natural forest species from Australia. These tree species stand out for their high wood potential and silvicultural versatility, and have been used as energy sources in the ceramic industries in the Amazon. A. mangium is reported as a multipurpose species, also used in the recuperation of degraded areas. In order to characterize parasitic fungi in these forest species, a survey was carried out in 2017 in forest plantations owned by Litiara Indústria Cerâmica da Amazônia Ltda, located at Km 19 of Highway AM-010 (direction ITA-MAO), in the municipality of Itacoatiara. Were are isolated and identified the fungi Cylindrocladium sp., Colletotrichum sp., Phomopsis sp., Macrophoma sp. and Pestalotia sp., associated with distinct leaf spots in the acacia mangio species, and two unidentified fungi in the eucalyptus species. A total of 15 isolates of A. mangium and 01 isolates of E. urograndis were used for assessment of the growth rate (TCMD), using colonies purified from tissue fragments presenting typical symptoms of disease. Among the isolates of A. mangium, the highest TCMD was observed for isolate 2027A (A12, Col. 1.1). Among the fungi identified and tested for pathogenicity, the 03 isolates of *Pestalotia* sp. together with *Macrophoma* sp., presented the highest growth rates (above 5.48 cm on day 6). Cylindrocladium sp., the only isolate with positive reaction in pathogenicity tests, had the lowest growth rate (5.34 cm on day 6). Pathogenicity tests were carried out on detached and healthy leaves from the terminal branches of the acacia mangio and eucalyptus species, from the colonies stored in glass flask by the Castellani method. The test was carried out in plastic trays in the laboratory, depositing 5 mm diameter BDA (Potato-Dextrose-Agar) discs, with and without the fungus, on the abaxial and adaxial faces of the leaves, previously scarified with a histological needle and in intact leaves. The leaves were kept in a humid chamber for 48h. Four days after inoculation, symptoms similar to leaf spot with and without scarification were observed, only for 03 isolates of Cylindrocladium sp. For the other fungi, no typical symptoms were observed on leaves of acacia mangio and eucalyptus. The fungus Cylindrocladium sp. was reisolated of the spots and again cultivated in BDA, completing the Koch Postulates. This is the first report of the occurrence of leaf spot caused by Cylindrocladium sp., in A. mangium in Brazil.

Key words: Acacia mangium, *Eucalyptus urograndis*, Pathogenicity, leaf spot, TCMD.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Croqui da Área de Coleta das Amostras (ECOFLORA 1)	30
Figura 2: Isolamento Direto e Câmara Úmida	32
Figura 3: Isolamento Indireto.	33
Figura 4: Incubação de placas de Petri para medição da Taxa de Crescime	ento Micelial
Diário (TCMD)	34
Figura 5: Método Castellani.	34 e 35
Figura 6: Coleta do material foliar para o Teste de Patogenicidade	36
Figura 7: Identificação do isolados	37
Figura 8: Sintomas e sinais de Podridão do Lenho	38
Figura 9: Sintomas e sinais de Queima-do-Fio	39
Figura 10: Média da TCMD	40
Figura 11: Determinação da TCMD.	41
Figura 12: Colônias e estruturas reprodutivas dos isolados identificados de mangium.	
Figura 13: Teste de Patogenicidade mostrando lesões foliares em folhas des	stacadas de
A. mangium	44
Figura 14: Teste de Patogenicidade mostrando lesões foliares em folhas des	stacadas de
Eucalyptus urograndis	45

Lista de Tabelas

Tabela 1: Análise de variância ANOVA para teste de patogenicidade	2
Tabela 2: Teste de média para os isolados testados em relação ao diâmetro d	la
lesão4	3
Tabela 3: Médias para o tipo de Limbo Foliar (Adaxial x Abaxial) em relação a	ıc
diâmetro da lesão4	5
Tabela 4: Média da interação Isolado x Limbo Foliar (Adaxial x Abaxial)4	16

Sumário

	1.1 INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
	2.1 TAXONOMIA, NOMECLATURA E USO DE ACÁCIA MANGIO E EUCALIPTO	17
	2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E REQUERIMENTOS EDAFOCLIMÁTICOS	18
	2.3 DOENÇAS DE Acacia mangium	22
	2.3.1 DOENÇAS DE Acacia mangium	22
	2.3.2 DOENÇAS DE EUCALIPTO	27
3.	MATERIAL E MÉTODOS	30
	3.1 COLETA E TRANSPORTE DO MATERIAL	30
	3.2 ISOLAMENTO DOS FUNGOS	31
	3.3 TAXA DE CRESCIMENTO MICELIAL DIÁRIO – TCMD	33
	3.4 ARMAZENAMENTO EM CASTELLANI	34
	3.5 TESTE DE PATOGENICIDADE	35
	3.6 IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS	36
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
	4.1 TAXA DE CRESCIMENTO MICELIAL DIÁRIO – TCMD	40
	4.2 TESTE DE PATOGENICIDADE	42
5.	CONCLUSÕES	50
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1. INTRODUÇÃO

A Acácia mangium Willd. é uma espécie estudada fora de sua área de origem, desde a década de 1950, em diversas partes do mundo, como Índia, Hawai, Camarões, Costa Rica, Bangladesh (TONINI et al., 2010). Desde então, vários trabalhos relatam o potencial da espécie para indústrias de papel e celulose, móveis, na conservação e recuperação de solo, além de outros usos. De acordo com alguns autores, no Brasil, a espécie sempre recebeu destaque, principalmente na pesquisa voltada ao condicionamento de substratos degradados. A A. mangium tem apresentado significativa capacidade de adaptação às condições edafoclimáticas brasileiras.

A adaptação de A.mangium a diferentes condições edafoclimáticas se deve em parte às suas características de rápido crescimento, baixo requerimento nutricional, tolerância à acidez, à compactação do solo e à elevada taxa de fixação de nitrogênio, que resulta em produção elevada de biomassa. Isso permite um aporte de nutrientes via liteira em áreas degradadas, além da fixação de nitrogênio molecular (N_2) , através de rizóbios e seus nódulos presentes no sistema radicular.

A espécie apresenta alta eficiência de uso de nutrientes, acumulando grande quantidade de biomassa em sua parte aérea e na serrapilheira. A acumulação de serrapilheira é positiva por representar reservas de nutrientes e proteção do solo, podendo, no entanto, servir como combustível em áreas sujeitas a queimadas (BALIEIRO *et al.*, 2010).

Por apresentar características como grande produção de sementes, floração abundante (propícia à criação de abelhas), crescimento inicial rápido, baixa demanda de nutrientes, tolerância ao estresse hídrico, fixação de nitrogênio, acúmulo de fósforo nas folhas (nutriente que mais limita a produtividade das culturas na Amazônia) e boa capacidade de rebrota, pode ser utilizada no enriquecimento de capoeiras, melhorando a produtividade da agricultura familiar, aumentando o acúmulo de biomassa e nutrientes no solo (TONINI *et al.*, 2010). De acordo com CARVALHO *et al.* (2001), a *A. mangium* apresenta algumas características desejáveis no estabelecimento de sistemas silvipastoris. Os autores citam como exemplo o crescimento rápido, que possibilita o acesso animal às pastagens em um curto período de tempo; o fato de ser espécie forrageira, o que significa que apesar de não possuir alto valor nutritivo, pode

suplementar a dieta animal, principalmente em períodos de escassez; o fato de ser perenifólia, mantendo-se verde na época seca, o que garante sombra, reduz a ação dos ventos e o ressecamento da pastagem; o fato de ter boa capacidade de rebrota e ter múltiplos usos, o que representa vantagem para o produtor, que poderá utilizá-las de acordo com suas necessidades. CARVALHO *et al.*, 1999) apontam algumas desvantagens da espécie, entre elas o fato de que a arquitetura de copa não é a mais indicada, por ser densa e com ramificações baixas. No entanto, afirmam, podem ser efetuadas desramas que aumentam a altura do fuste e a qualidade da madeira e adotados espaçamentos mais amplos, buscando não prejudicar a pastagem por excesso de sombreamento.

Outras desvantagens apontadas são a suscetibilidade à quebra por ventos e o ciclo de vida da *A. mangium*, considerado curto. Essas desvantagens, contudo, são compensadas pelo fato de que a espécie estar apta ao corte já aos sete anos, mesmo em solos de baixa fertilidade, e de possuir grande capacidade de regeneração, retomando rapidamente o crescimento apical, característica altamente desejável para sistemas silvipastoris. O rendimento de matéria seca de *A. mangium* depende da interação entre a frequência e a altura de poda, indicando maiores rendimentos em intervalos de 84 dias a uma altura de 100 cm (RODRIGUEZ-PETIT *et al.*, 2001).

No processo de recuperação de solos, a incorporação da matéria orgânica proporcionada pelos plantios de *A. mangium* aumenta a atividade microbiana e a macrofauna do solo (TONINI, 2010), melhorando a ciclagem de nutrientes e o estabelecimento de espécies secundárias. Nesse sentido, o potencial de decomposição do material vegetal das espécies pioneiras a serem utilizadas no processo de recuperação de uma área degradada tem grande importância (TONINI, 2010).

A. mangium é suscetível a diversas doenças, em todas as fases do seu ciclo de vida, com impacto significativo em plantios na Ásia e Oceania (OLD *et al.*, 2000). No Brasil, entretanto, poucas são as enfermidades descritas que incidem nessa espécie, o que deve ocorrer pelo fato de sua exploração comercial ainda ser em pequena escala quando comparado a outras espécies florestais como o eucalipto (BRACELPA, 2006).

Por outro lado, a demanda por produtos madeireiros tem aumentado nos últimos anos, principalmente pela crescente escassez de madeira de espécies arbóreas nativas. Nesse contexto, o eucalipto é uma das raras espécies florestais no planeta que tem

flexibilidade de usos, principalmente por sua grande diversidade de espécies. No Brasil, o eucalipto foi introduzido com finalidade comercial em 1904, por Edmundo Navarro de Andrade (WILCKEN, et al., 2008). Inicialmente, o propósito dos plantios era apenas a produção de dormentes, postes e lenha para as locomotivas das estradas de ferro paulistas. No entanto, desde então, várias pesquisas têm demonstrado a versatilidade de uso da madeira de eucalipo para diversos fins, tais como: energia, (lenha e carvão vegetal), postes e mourões, construção civil (pontaletes e madeiramento para telhado e pisos), chapas de fibras, para celulose e papel, e até móveis finos e óleos essenciais extraídos de suas folhas (WILCKEN et al., 2008).

A importância da cultura do eucalipto para o Brasil pode ser avaliada pela participação do setor florestal na economia do país. Inicialmente, apoiado por incentivos fiscais ao reflorestamento, e também pelos Programas Nacionais de Siderurgia a Carvão Vegetal e de Celulose e Papel, o setor responde atualmente por 4% do PIB (produto interno bruto), setecentos mil empregos diretos e dois milhões de empregos indiretos. Adicionalmente, a contínua expansão do setor florestal brasileiro, baseado em plantações, principalmente com eucaliptos, possibilita a exportação de US\$ 2 bilhões por ano, tendo o Brasil uma área estimada com plantio de eucalipto de cerca de 2,9 milhões de ha (SILVA, 1997).

O melhoramento de plantas consiste na modificação genética de várias espécies, com a finalidade de obter variedades híbridas, capazes de se adaptar a condições de determinados ambientes, além de apresentarem maior resistência a pragas e doenças (BALIEIRO, 2013). No caso do eucalipo, os clones resultantes de híbridos interespecíficos são importantes porque aliam alta produção à resistência a pragas e doenças.

Outro aspecto importante a ser observado é a escolha das mudas. Atualmente, há grande demanda por parte dos produtores rurais de mudas clonais. A muda clonal ou clone é uma muda feita por propagação vegetativa (estaquia) e tem como principais vantagens à uniformidade do desenvolvimento e da qualidade da madeira, devendo-se observar, porém, alguns fatores de riscos, como suscetibilidade do clone a uma determinada praga, doença ou deficiência de um micronutriente, bem como adversidades climáticas, etc. (WILCKEN et al., 2008).

O eucalipto é atacado por vários patógenos, principalmente fungos, desde a fase de viveiro até os plantios adultos. Geralmente, os problemas são observados nas plantações ocorrendo, nos mais variados locais, espécies e épocas do ano. A solicitação contínua de informações por parte de produtores e empresas sobre a identificação e o controle de doenças, motivou a elaboração de uma publicação mais específica para a região sul do Brasil. Ela visa auxiliar no melhor conhecimento dos problemas bióticos e abióticos inerentes ao eucalipto nessa região e no estabelecimento de estratégias adequadas de controle.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Taxonomia, nomenclatura e uso de acácia mangio e eucalipto

A acácia é uma espécie nativa da parte noroeste da Austrália, de Papua Nova-Guiné e do oeste da Indonésia, com potencial para cultivo nas zonas baixas e úmidas, cuja madeira apresenta usos variados, entre eles a construção civil e de móveis (SMIDERLE, 2005). A espécie pertence à família botânica Mimosaceae e tem como sinônimo *Racosperma mangium* (Willd.) Pedley. O autor classifica a espécie como pertencente ao gênero *Acacia mangium*, sinonímia *Racosperma mangium* (Willd.) Pedley.

A acácia tem como nomes comuns: acácia mangio (Brasil), brown salwood, black wattle, hickory wattle (Inglaterra e Austrália), tongke hutan (Indonésia), mangge hutan, nak (Ilhas Molucas), mangium, krathin-thepha (Malásia) (SMIDERLE, 2005).

O gênero *Acacia* possui mais de 1.300 espécies largamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo. A maior parte das espécies é encontrada no hemisfério sul e o principal centro de diversidade é a Austrália.

A maioria das espécies produtores de madeira é encontrada na Papua Nova Guiné (Lemmes *et al.*, 1995). Porém, grande parte das espécies pertencentes a este gênero são arbustos ou pequenas árvores de savana secas e de regiões áridas da Austrália, África, Índia e das Américas, mas há um grupo de espécies natural da região tropical úmida, que são adaptadas ao clima quente e úmido, característico desses locais.

Crescem rapidamente, produzindo madeira densa, que pode ser utilizada de diversas maneiras

Devido à sua competitividade inata, as acácias tropicais são fáceis de serem cultivadas. Em seu ambiente natural ocorrem em agrupamentos puros e densos, sugerindo que podem ser plantadas em monoculturas sem problemas sérios de pragas e doenças (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983).

Wilcken et al. (2008) classificaram as diferentes espécies de eucalipo quanto ao seu uso e utilização. Listam E. grandis, E. globulus, E. urophylla e o híbrido E. urograndis como espécies recomendadas para papel e celulose; para chapas de fibra, recomendam E. grandis, E. urophylla e o híbrido E. urograndis; para móveis, os autores recomendam E. saligna, E. urophylla, E. grandis, E. dunnii e os híbridos E. urograndis e E. pilularis; para uso como postes, dormentes e mourões os autores recomendam as espécies C. citriodora, E. cloeziana, E. urophylla, E. camaldulensis e E. paniculata. Para energia (carvão e lenha), recomendam E. cloeziana, E. camaldulensis, E. urophylla, E. grandis, E. citriodora e E. tereticornis; para estruturas de construção civil, são recomendados C. citriodora, E. cloeziana, E. urophylla, E. paniculata e E. pilularis; para extração de óleos essenciais recomendam C. citriodora, E. staigeriana e E. camaldulensis e E. globulus.

2.2 Distribuição geográfica e requerimentos edafoclimáticos

A Acacia mangium é uma espécie natural da região noroeste da Austrália Queensland), Papua Nova Guiné e leste da Indonésia (Ilhas Molucas, Sula e Aru) (LEMMENS et al., 1995). Inicialmente a espécie foi descrita como Mangium montanum Rumph e também como Acacia glauscenses sensu Kanehira e Hatusima (CATIE, 1992). Atualmente distribui-se em quase todas as regiões tropicais do globo terrestre (ROSSI e SOUZA, 2003; SELAMAT, 1991).

Em seu habitat natural alcança de 25 a 30 m de altura, porém, em condições adversas não chega a 10 m. (ROSSI e SOUZA, 2003) e 90 cm de diâmetro à altura do peito (DAP). Geralmente apresenta fuste reto, com ramificações que começam acima da metade da altura total deste. Quando livres de competição, a forma da copa é globular, porém, em plantações onde o espaçamento é menor, apresenta-se cônica (TONINI e

HALFED-VIEIRA, 2010; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983; YARED *et al.*, 1990).

A. mangium é uma espécie pioneira e heliófita, que aparece de forma dispersa nas margens de áreas de cultivos agrícolas ou nas margens de florestas naturais. É considerada uma espécie de alta plasticidade, crescendo tanto em locais secos quanto úmidos, com precipitações médias anuais que variam de 1.000 até 4.500 mm e temperaturas variando entre 12 °C e 34 °C, porém, o seu desempenho é superior em regiões úmidas (SOUZA et al., 2010).

A espécie *A. mangium* cresce bem em solos compactados, erodidos e degradados, em declividades acentuadas e em locais infestados com plantas daninhas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983; CATIE, 1992).

A. mangium cresce bem em solos compactados, erodidos e degradados, em declividades acentuadas e em locais infestados com plantas daninhas (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983; CATIE, 1992). Tolera solos com pH de até 3,5 e se desenvolve bem na presença de altos teores de óxidos de ferro e alumínio. É intolerante a condições salinas, sombreamento e baixas temperaturas. Por causa de sua folhagem densa e raízes superficiais, a espécie é suscetível ao vento (MACKEY, 1996).

Conforme as condições de sua distribuição natural e nos resultados de diversos estudos conduzidos em diferentes regiões do mundo, acácia mangio deve ser plantada preferencialmente em locais úmidos, onde a precipitação seja normalmente superior a 2.000 mm por ano e com temperaturas estáveis (CATIE, 1992). Sabe-se que o prolongamento de períodos secos faz com que o crescimento das árvores pare ou diminua de forma extrema, mas a espécie adapta-se bem às condições ambientais da Amazônia (TONINI e HALFED-VIEIRA, 2006).

Tonini e Halfed-Vieira (2006) afirmam que *A. mangium* possui 2n = 26 cromossomos e o híbrido de *A. mangium* x *A. auriculiformes* apresenta potencial para tornar-se importante fonte de material produtivo e resistente a doenças, indicado para plantações florestais por aliar o tronco retilíneo de *A. mangium* à habilidade de se auto desbastar da *A. auriculiformis*.

Uma particularidade sobre a espécie é que ela apresenta folhas compostas somente durante algumas semanas após a germinação, que são depois substituídas por folhas simples e de borda inteira, denominadas filóides, com cerca de 25 cm de comprimento e 10 cm de largura. Isso confere a *A. mangium* um aspecto completamente diferente de outras espécies, incluindo outras do gênero *Acacia* (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983).

A espécie Acacia mangium é conhecida por ser uma leguminosa bastante promissora e viável para inúmeras aplicações de seus produtos obtidos da floresta plantada. No Brasil, ela tem sido apresentada até como "milagrosa", sendo que a ela se associam denominações pomposas como: "ouro verde do cerrado", "espécie de reflorestamento inteligente e sustentável", "espécie para o reflorestamento do futuro", etc. A espécie tem reconhecidamente muito potencial, mas para ganhar esse status há ainda um longo caminho a percorrer, seja no melhoramento genético da forma e produtividade florestal, seja nas interações genótipos e ambientes, bem como nas técnicas silviculturais de plantio, manejo e colheita. Relatam ainda que a espécie é sensível a algumas pragas e doenças e sua silvicultura é complicada em função da qualidade e forma do tronco e também da tendência às bifurcações próximas à base das árvores (abaixo de 1,3 metros de altura). Em síntese, os autores salientam que A. mangium necessita de muito esforço de pesquisa, de novas tecnologias e muita dedicação por parte dos pesquisadores e plantadores de árvores para chegar aos rendimentos esperados.

De acordo com Rossi *et al.* (2003), a grande vantagem silvicultural da *A. mangium* é sua associação micorrízica com micro-organismos do solo. Como grande número de leguminosas, essa espécie também apresenta simbiose com bactérias pertencentes ao gênero *Rhizobium*, que fixam o nitrogênio, por meio da conversão de nitrogênio molecular (N₂) em amônia (NH₄), aumentando a disponibilidade desse nutriente para A planta. Essa simbiose é importante no aumento da absorção dos nutrientes de pouca mobilidade no solo, como fósforo, zinco, cobre e amônio, mas também de nutrientes móveis como potássio, sulfato e nitrato (REDDELL e WARREN, 1986).

No Brasil, a espécie é também conhecida como acácia australiana, mas seu nome mais comumente utilizado é mesmo o de acácia mangio.

Acacia mangium pertence à família Leguminosae ou Fabaceae, conforme a classificação taxonômica de Engler; ou à família Mimosaceae, conforme defende Cronquist.

Ela tem sido também classificada como *Racosperma mangium*, por um grupo de taxonomistas que entendem que os ecotipos australianos (que não possuem espinhos) deveriam ser agrupados em outro gênero na mesma família. Entretanto, a maioria dos taxonomistas vegetais não concorda com isso, entendendo que os espinhos poderiam mais ser um indicativo de uma variedade ou ecotipo, mas nunca de outro gênero de plantas.

A necessidade por produtos madeireiros tem aumentado ano a ano, principalmente pela crescente escassez de madeira de espécies arbóreas nativas. O eucalipto é uma das raras espécies florestais no planeta que tem flexibilidade de usos, principalmente por sua grande diversidade de espécies.

De acordo com Mackey (1996), *A. mangium* é uma espécie multiuso que cresce bem em condições edafo-climáticas adversas, como os solos tropicais ácidos e pobres em nutrientes.

No Brasil, o eucalipto foi introduzido com finalidade comercial em 1904, por Edmundo Navarro de Andrade. Inicialmente o propósito dos plantios era a produção de dormentes, postes e lenha para as locomotivas das estradas de ferro paulistas. Entretanto, várias pesquisas desde então têm demonstrado a versatilidade de uso da madeira de eucalipto.

Pode-se utilizar a madeira produzida para energia (lenha e carvão vegetal), postes e mourões, para construção civil (pontaletes e madeiramento para telhados e pisos), para chapas de fibras, para celulose e papel e até móveis finos. Além disso, como produto não-madeireiro, é possível a extração de óleo essenciais das folhas do eucalipto, plantio para quebra-ventos, produção de mel, entre outras utilidades.

2.3 Doenças de A. mangium e Eucalyptus sp.

Embora seja uma espécie considerada rústica quanto às exigências edafoclimáticas, *A. mangium* está sujeita a uma série de doenças que podem limitar sua produção tanto no viveiro quanto em povoamentos.

2.3.1 Principais doenças de A. mangium

Na Amazônia, além dos patógenos oriundos de essências madeireiras nativas que passam a ter importância econômica quando são cultivadas, existem os patógenos introduzidos concomitantemente com as essências florestais exóticas para exploração madeireira, como o eucalipto, a teca e a *Acacia mangium* (GASPAROTTO, 2014). Além disso, afirma o autor, novos patógenos podem originar-se da floresta, quando as essências nativas e exóticas passam a ser cultivadas em escala comercial e, nesses casos, os empresários do setor florestal madeireiro recorrem a consultores de outras regiões. Porém, a falta de conhecimento científico dos problemas fitossanitários a ser enfrentados na região, causa indefinição na sua resolução e consequentemente acarreta prejuízos ao desenvolvimento dessas espécies na Amazônia.

Segundo Lee (2004) *apud* Tonini e Vieira (2006), a *A. mangium* é altamente suscetível à podridão-do-lenho ou cerne, que está relacionada à permanência de galhos mortos na planta e à presença de ferimentos, o que propicia a invasão do complexo de fungos que causa a podridão-do-lenho.

A presença de ferimentos tem sido considerada fator importante, pois A. mangium tem dificuldade em formar uma zona de proteção efetiva. A. mangium é relatada como uma espécie florestal exótica, cultivada em Roraima, e uma das limitações ao seu cultivo é a ocorrência de doenças, dentre elas a podridão-do-lenho, causada por Lasiodiplodia theobromae (HALFELD et al., 2005). Para chegar à etiologia da doença, os autores isolaram diversos patógenos, a partir da região do lenho com sintomas de podridão. A seguir, inocularam plantas jovens de A. mangium com discos de micélio dos isolados cultivados em BDA. Os resultados demonstraram que

apenas o fungo *Lasiodiplodia theobromae* foi capaz de reproduzir os sintomas típicos de podridão-do-lenho, nos testes de patogenicidade.

A doença é de natureza complexa, atribuindo-se como causa a invasão por diversas espécies de fungos que causam apodrecimento (HALFELD-VIEIRA, 2014). Quando verificada em alta incidência, pode comprometer a exploração comercial, por causar mortalidade de árvores e afetar a qualidade da madeira; embora com pouca significância na produção de polpa para celulose. As perdas em volume de madeira nas árvores afetadas pela podridão-do-lenho podem atingir índices de até 63,8% (VIEIRA et al, 2006).

De acordo com Lee (2000) *apud* Vieira *et al.* (2006), a podridão-do-lenho é mais freqüente em árvores mais velhas, porém danos podem ser observados em plantas com menos de 44 meses de idade. Levantamento realizado por Barry *et al.* (2004), na Indonésia, constatou a incidência de 46,7% de árvores de oito anos com podridão-do-lenho, enquanto outros autores observaram incidência entre 50 e 98% (VIEIRA *et al.*, 2006).

No Brasil, VIEIRA et al. (2006) relataram pela primeira vez a podridão-dolenho em A. mangium, ocasionando perdas significativas em Roraima. Relatam que a existência de grandes áreas plantadas em monocultivo de A. mangium no Estado, em florestas destinadas ao uso em produtos serrados, torna indispensável o desenvolvimento de sistemas silviculturais que possibilitem melhorar a qualidade da madeira e reduzir perdas decorrentes da podridão-do-lenho, aqui associada ao Lasiodiplodia theobromae.

As plantações de *Acacia* nos trópicos úmidos geralmente não apresentam problemas sérios de pragas ou doenças, ao contrário do eucalipto, que pode ser atingido por doenças em diferentes ambientes (Old *et al.*, 2000). Entretanto, diversos locais do sudeste da Ásia e do nordeste da Austrália têm a produtividade dos plantios de acácia afetada por fungos patogênicos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983).

Na Indonésia, Tarigan *et al.* (2011) encontraram o fungo *Ceratocystis s*p. associado a uma nova murcha, com sintomas de die-back (morte descendentes de ponteiros) em *A. mangium*. De acordo com os autores, o fungo e a doença são

considerados novos nas áreas de plantios de *A. mangium*, porém apresentam enorme potencial de disseminação. Afirmam ainda que vários isolados de *Ceratocystis* foram coletados e isolados de plantios de *A. mangium* com sintomas de murcha, na Indonésia.

Segundo Halfed-Vieira e Nachet (2010), os patógenos encontrados em A. mangium no Estado de Roraima foram Lasiodiplodia theobromae, Cercospora sp., Colletotrichum sp., Fusarium solani, Oidium sp., Pestalotia sp., Phaeotrichoconis sp., Phomopsis sp., Pyllosticta sp.

Halfeld-Vieira *et al.* (2014) relatam as principais doenças em *A. mangium* na Amazônia, especialmente em plantios homogêneos da cultura no Estado. Descrevem as doenças, seus sintomas e os agentes causais a elas associados.

As principais doenças e suas descrições são descritas a seguir: Fusariose - doença que, segundo os autores, afeta caracteristicamente mudas de *A. mangium* em seus primeiros estágios de desenvolvimento. Comentam que no Brasil, apenas *Fusarium solani* foi reportado como agente causal da doença no hospedeiro, observada em condições de viveiro, no ano de 2003, em Boa Vista-RR (HALFELD-VIEIRA e NECHET, 2005; HALFELD-VIEIRA e NECHET, 2010). Os autores afirmam que a fusariose pode ser considerada uma doença importante na fase de viveiro, uma vez que causa morte de plantas jovens e reduz significativamente a produção de mudas (TONINI e HALFED, 2010; HALFED-VIEIRA; OLD *et al*, 2000).

A ocorrência da fusariose é facilmente reconhecida pelos sintomas evidentes que ocorrrem em mudas de *A. mangium*, caracterizados por avermelhamento e seca de caule e folhas, sem causar tombamento. Em outros países, a doença pode ser causada por mais de uma espécie de *Fusarium*, cujo dano é o tombamento das plântulas (OLD *et al.*, 2000). As medidas preconizadas para controle da doença incluem a utilização de substratos isento do patógeno e o controle da irrigação, evitando-se o excesso de água.

Oídio foi constatado pela primeira vez em *A. mangium* no ano de 2005, na cidade de Boa Vista-RR, onde causou danos severos apenas em plantas jovens cultivadas em local sombreado (HALFELD-VIEIRA e NECHET, 2010). Segundo os autores, a doença é facilmente reconhecida pelos sinais do patógeno, caracterizados por pulverulência branca na superfície foliar. De acordo com Halfeld-Vieira, a doença

ocorre desde o estádio de folhas pinadas e, em caso de ataque severo, a doença progride para o amarelecimento de folíolos que ocasiona desfolha e, possivelmente, causa necrose e deformação da área afetada. O controle da doença é feito com a aplicação de fungicidas à base de enxofre (RODRÍGUEZ PETIT *et al.*, 2001).

Em outros países, as descrições da fase assexuada (anamórfica) disponíveis na literatura revelam a existência de espécies distintas, que ocorrem em associação ao gênero *Acacia* (HALFELD-VIEIRA *et al.* (2014), *apud* OLD *et al.* (2000).

Old *et al.* (2000) relata a ocorrência de uma espécie de *Oidium* com esporos formados em cadeia, que ataca a folha de *A. mangium*, diferentemente da espécie observada em plantios no Estado de Roraima.

Outra doença muito comum em *A. mangium* é a queima-do-fio, causada por *Ceratobasidium* sp. De acordo com Duarte *et al.* (2006), a queima-do-fio é uma doença endêmica que ocorre mais durante o período chuvoso. A doença é causada por um patógeno polífago, comum na região amazônica e relatado em mais de 50 espécies de plantas (GASPAROTTO e SILVA, 1999). O controle da doença com fungicidas cúpricos tem sido uma prática adotada em muitas áreas de cultivo, embora sem muita eficiência (DUARTE *et al.*, 2006).

Gasparotto e Silva (1999) relatam que a queima-do-fio é facilmente reconhecida pela seca de ramos e folhas, presença de cordões miceliais, formados de hifas anastomosadas, com pequenas ramificações laterais, que se desenvolvem sobre as partes afetadas, cujas folhas mortas se destacam e ficam pendentes, presas umas às outras por filamentos miceliais. Como medida de controle da doença eles recomendam a poda dos ramos e galhos afetados e a remoção desse material da área de plantio, a fim de diminuir a fonte de inóculo.

A doença podridão-do-lenho é apontada por vários autores como a doença mais importante de *A. mangium* e uma das mais relatadas em associação com plantios da espécie no Brasil e no exterior, sendo que na Amazônia a doença foi constatada primeiramente no Estado de Roraima (TONINI e HALFELD, 2006; TONINI *et al.*, 2010; HELFELD-VIEIRA *et al.*, 2014).

De acordo com Halfeld-Vieira *et al.* (2005), a podridão-do-lenho teve sua etiologia esclarecida, depois de ensaios envolvendo isolamento, inoculação e expressão de sintomas pelo fungo *Lasiodiplodia theobromae*, durante os testes de patogenicidade.

Eyles *et al.* (2008) afirmam que a *A. mangium* é uma espécie de rápido crescimento, plantada principalmente em grandes monoculturas para produção de polpa de celulose, no sudeste da Ásia. Segundo os autores, a podridão radicular tornou-se a doença que tem causado os maiores prejuízos, do ponto de vista econômico, apresentando alta taxa de mortalidade, observada principalmente na segunda e terceira rotação (corte). Eles relatam dois tipos principais de podridão de raízes encontrados em *A. mangium*: podridão-marrom e podridão vermelha, causadas por *Phellinus* spp. e *Ganoderma* spp., respectivamente.

Embora seja considerada impactante na produção de polpa de celulose (LEE, 2004; EYLES *et al.*, 2008), a podridão-do-lenho causa grandes perdas econômicas em volume de madeira e, embora ocorra com mais frequência em árvores mais velhas, a doença pode afetar também plantas com menos de 44 meses de idade (LEE *et al.*, 1988).

Outra doença importante da cultura de *A. mangium* no Brasil é a queima-do-fio, causada por *Ceratobasidium* spp. Os sintomas mais comuns da queima-do-fio no Brasil é o apodrecimento do lenho no sentido vertical, principalmente a partir de ferimentos causados na operação de poda dos ramos (desrama), facilmente observado após a remoção da casca (Halfed-Vieira *et al.*, 2014). De acordo com os autores, os sintomas podem ser observados no cerne, onde se verifica uma degradação típica dos tecidos. Em relação ao controle da doença, os autores recomendam a observação de vários fatores predisponentes, listando algumas medidas a serem seguidas: a) O plantio de *A. mangium* em locais sem déficit hídrico; b) Escolha de genótipos de maior tolerância ao estresse hídrico: c) Efetuar a desrama das plantas até 8 meses após o plantio.

Medina e Pinzón-Flórian (2011) relatam a associação entre insetos brocadores do tronco de *A. mangium* e a podridão do lenho. Segundo os autores, os insetos dos gêneros *Xyleborus* sp. e *Teloplatypus* sp. agem como porta de entrada para fungos apodrecedores do tronco, causando baixo rendimento do fuste e a depreciação da

madeira. Essas espécies são comumente relatadas dentro do grupo das coleobrocas que atacam madeira em toras armazenadas no campo e em pátios de serrarias.

Lee (2000) menciona o fungo *Ganoderma philippii* como importante agente causal de podridão de raiz em plantios comerciais de *A. mangium* na Malásia. De acordo com Lee (2000), a podridão de raiz, ao lado da podridão do lenho (heathrot), são as principais doenças de plantios de *A. mangium* na Malásia.

2.3.2 Doenças do Eucalyptus sp.

O eucalipto é uma espécie que está sujeita a uma série de doenças, em todas as suas fases de desenvolvimento, principalmente no estádio de mudas, em viveiro. Vários estudos de melhoramento visando a incorporação de genes de resistência/tolerância na planta são descritos na literatura (ROSSI et al., 2003). Modernamente, afirmam os autores, o plantio de clones mais produtivos e resistentes a doenças, como *E. urograndis*, resultante do cruzamento de *E. grandis x E. urophylla*, tem reduzido o impacto das doenças sobre a cultura.

Wilcken *et al.* (2008) descrevem a ferrugem do eucalipto, causada por *Puccinia psdii*, como a principal doença da cultura do eucalipto no Brasil. Relatam que a doença foi primeiramente descrita no Brasil em 1929, tendo assumido grande importância na cultura em meados da década de 70. Afirmam que a doença é mais comum e severa em plantações de eucalipto muito suscetíveis, como *E. grandis* e *E. urophylla*, de até dois anos de idade. Relatam ainda que a doença também pode ser encontrada em viveiros e jardins clonais, devido à alta umidade, sombreamento e temperatura amena, sendo condições ótimas para o seu desenvolvimento, temperatura média entre 15 e 25 °C e índices de umidade relativa do ar acima de oito horas noturnas.

A sintomatologia da ferrugem do eucalipto manifesta-se através de esporulação pulverulenta e amarelada (pústulas com basidiósporos e teliósporos) em folhas e ramos jovens (WILCKEN *et al.*, 2008). Em ataques severos, garantem que pode ocorrer deformação, encarquilhamento e necrose das porções terminais de crescimento. Recomendam medidas de controle, incluindo o plantio de clones, progênies ou espécies resistentes, o plantio de clones pouco favoráveis à infecção (escape ou evasão), e

aplicações quinzenais de fungicidas sistêmicos, tais como o triadimenol (0,5g de i.a./L) e azoxystrobin (0,1 g de i.a./L).

Além da ferrugem, Wilcken *et al.* (2008) mencionam ainda como doença importante da cultura o cancro do eucalipo, causado pelo fungo *Chrysoporthe cubensis* (Sin. *Cryphonectria cubensis* e *Dothiorella* spp.). Citada como "doença da casca", o cancro do eucalipto se estabelece em regiões quentes e úmidas, com média de temperatura superior a 1.200 mm, quando são plantados clones ou procedência suscetíveis, com idade superior a 6 meses.

O patógeno ataca a casca, câmbio e lenho, produzindo os seguintes sintomas: lesões basais em plantas jovens; morte de tecidos da base, com trincamento e rompimento da casca em tiras; formação de calos ao redor da lesão (anelamento) que pode estender-se verticalmente pelo tronco e atingir 50% da sua circunferência (cancro típico); intumescimento de tecidos, com lesões superficiais (sem atingir o câmbio) e formação de uma nova casca mais resistente sob a casca infectada; rápido murchamento da folhagem (WILKCKEN *et al.*, 2008).

Para o controle do cancro do eucalipto são recomendadas medidas, tais como: Plantio de clones, progênies ou espécies resistentes; eliminação das plantas doentes no campo; procurar um profissional qualificado da área (WILCKEN *et al.*, 2008

Crous (1998) afirma que a doença conhecida como "queima do eucalipto" é causada por várias espécies de *Mycosphaerella* e várias formas anamorfas ligadas ao gênero. De acordo com o autor, os sintomas da doença manifestam-se de várias formas, desde a abscisão prematura de folhas, manchas foliares e cancro do caule.

Caires (2013) afirma a doença "mofo-cinzento", causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, é um importante patógeno de *A. mangium*. A autora testou a patogenicidade de isolados do patógeno e concluiu que houve maior germinação de conídios de *B. cinerea* na face adaxial de folhas novas de eucalipto, mantidas no escuro, e que esta condição contribui para maior severidade da doença. Conclui também que conidióforos de *B. cinerea* emergem de ambas as faces foliares intactas de eucalipto e a penetração e infecção ocorre tipicamente de maneira direta, através da dissolução enzimática do tecido hospedeiro.

Rodas *et al.* (2005) relatam que o fungo *Chrysoporthe cubensis* é um dos patógenos mais sérios causadores de cancro em plantios comerciais de eucalipto nas regiões tropicais e subtropicais. Os testes de patogenicidade foram realizados em várias espécies de eucalipto. Afirmam também que o patógeno é o mesmo encontrado em *Miconia theaezans* e *Miconia rubiginosa*.

Ferreira e Silva (2004) afirmam que as doenças do eucalipto na Amazônia estão associadas às condições ambientais e às espécies utilizadas. Dessa forma, afirmam que as regiões da Amazônia têm climas bastante distintos, principalmente no Estado de Rondônia, próximo à divisa com o Mato Grosso. Nas outras áreas ocorrem climas tropicais úmidos, com chuvas uniformes ou periódicas muito abundantes. Estas condições segundo eles definem duas situações distintas para a adaptação de espécies de *Eucalytus*. Relatam que longos períodos quentes e úmidos facilitam a disseminação de doenças foliares e sua ação durante todo o ano limita o crescimento de espécies suscetíveis a doenças foliares.

A patogenicidade e o crescimento micelial diário são características importantes na taxonomia e identificação de fungos fitopatogênicos.

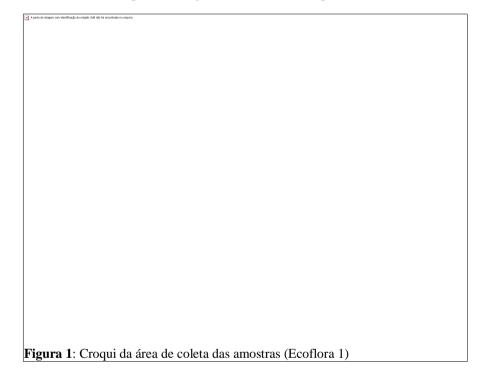
De acordo com Sutton (1992), entre os descritores morfológicos, fisiológicos e culturais utilizados em taxonomia de fungos fitopatogênicos, a taxa de crescimento micelial é, sem dúvida, um dos mais recomendados. Todos os trabalhos de taxonomia clássica visando à identificação de fungos fitopatogênicos incluem a taxa de crescimento micelial diária em meio de cultura, além de características morfológicas (tamanho e forma de conídios e apressórios) e culturais, como forma, bordo, cor, pigmentação, formação de setores, zonas concêntricas e topografia de colônias. Na atualidade, a taxonomia de fungos tem associado a estes descritores fisiológicos e morfo-culturais, técnicas e ferramentas moleculares, incluindo PCR (Polymerase Chain Reaction), marcadores moleculares e sequenciamento de gens de regiões conservadas do DNA fúngico, usando primers específicos e sequências depositadas no GeneBank e blastadas para edição da árvore filogenética.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e transporte do material

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia-INPA.

As amostras de *A. mangium* e *E. urograndis* foram coletadas nos meses de abril e setembro, na empresa Litiara Indústria Cerâmica da Amazônia Ltda. A área de coleta do projeto fica situada no Km 19 da Rodovia AM-010 (sentido Itacoatiara/Manaus), com sede no Km 8 da Rodovia AM-010. A área de estudo faz parte do Projeto de Reflorestamento da Empresa (Projeto Ecoflora 1) (Figura 1).



No presente estudo, as amostras que apresentavam sintomas de lesões foram coletadas em uma área de plantio de Acácia mangio, num total de 100 hectares, subdivididos em 4 áreas menores (Prop 01, Prop 02, Prop 03 e Prop 04).

Os tipos de amostras coletados foram raízes, tronco, ramos e folhas, para *A. mangium* com sintomas de necrose e podridão, respectivamente, e *E. urograndis* somente amostras foliares. O material foi coletado em talhões de plantios da empresa Litiara Indústria Cerâmica da Amazônia Ltda, no Km 19 da Rodovia AM-010. As áreas

foram percorridas e as amostras apresentando sintomas típicos da doença foram colocadas em sacos de papel e acondicionadas em isopor, a fim de preservar as condições do material durante o transporte, até o laboratório de Fitopatologia do INPA, situado em Manaus. Fez-se a caracterização e descrição dos sintomas de cada amostra e o seu registro em livro próprio do laboratório após o que o material foi lavado com detergente neutro em água corrente e secado em papel toalha. Em seguida fez-se a triagem do material quanto ao tipo de isolamento a ser usado.

3.2 Isolamento dos fungos

As amostras foram colocadas em sacos de papel e acondicionadas em isopor com gelo, a fim de preservar as condições do material durante o transporte, até o laboratório. O isolamento dos fungos foi realizado a partir de plantas de *A. mangium* Willd e *E. urograndis* com mais de 3 anos de idade, provenientes de plantios definitivos. Para as lesões que apresentavam estruturas reprodutivas do fungo na superfície do tecido, foi procedido o isolamento direto (Figura 2) conforme método descrito por Alfenas e Mafia (2007). Com auxílio de microscópio estereoscópio e agulha histológica flambada (Figura 2A), essas estruturas foram visualizadas e transferidas para meio de cultura Batata-Destrose-Ágar (BDA), contidos em placas de Petri descartáveis de 18 cm, forrada ao fundo com camada dupla de papel-toalha e contendo algodão umedecido com água destilada autoclavada (ADA). Após o desenvolvimento das colônias, estas foram purificadas e identificadas por códigos de isolamento.

Antes de verter o meio de cultura nas placas, adicionou-se cerca de 100 mg de Ampicilina, um antibiótico de largo espectro, para cada litro de meio de cultura, para evitar a contaminação das colônias fúngicas por bactérias, durante o período de incubação. As amostras que não apresentaram sinais do patógeno foram submetidas à câmara úmida (Figura 2 B-C) para indução da esporulação, por 48 horas, utilizando-se placas de Petri de vidro de mais ou menos 18 cm, forrada ao fundo com camada dupla de papel-toalha e contendo algodão umedecido com água destilada autoclavada (ADA).



Figura 2. Isolamento Direto e Câmara Úmida: Visualização das estruturas reprodutivas em estereoscópica (A); amostras foliares, radiculares e ramos, em câmara úmida (B e C).

Fotos: (A) Ananias Cruz; (B) Eliana Lopes

O isolamento indireto foi realizado para o material lesionado que não apresentavam estrutura do fungo na superfície da lesão, mesmo depois de submetido à câmara úmida. Este método foi realizado em ambiente asséptico de câmara de fluxo laminar, onde foi realizado o isolamento indireto (Figura 3). Fragmentos de tecidos de 2-4 mm de diâmetro foram retirados da zona de transição entre o tecido necrosado e tecido sadio, com auxílio de lâmina de bisturi ou tesoura flambados. Foram retirados 10 fragmentos de tecido por amostra de tecido. Em seguida os fragmentos foram imersos numa solução de álcool etílico 70% por 30 segundos, e depois em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) na concentração de 1,5%, por 1 minuto e meio. Os fragmentos desinfestados em solução de hipoclorito foram mergulhados em duas porções de ADA, secos em camada dupla de papel-filtro e plaqueados em meio de cultura BDA, suplementado com antibiótico (ampicilina). O álcool 70% tem por finalidade quebrar a tensão superficial do fragmento de tecido e facilitar o molhamento na solução de hipoclorito. A solução de hipoclorito tem por finalidade a eliminação ou redução dos micro-organismos saprófitas e contaminantes. ADA foi utilizada para retirar o excesso da solução desinfestante (NaClO) e o papel-filtro para reduzir o excesso de água, antes dos fragmentos serem plaqueados em BDA. As placas foram incubadas sob luz contínua, formada por um conjunto de lâmpadas fluorescentes, posicionadas a 40 cm acima das placas.

Após o crescimento das colônias, procedeu-se a purificação das colônias crescidas a partir dos segmentos de tecidos plaqueados. Para isso, foram repicados fragmentos de micélio da extremidade das colônias, para novas placas contendo BDA novo. Esse procedimento foi realizado para cada isolamento com características culturais distintas em termos de coloração A purificação das colônias. Dessa forma foi possível obter isolamentos múltiplos a partir de cada fragmento de tecido.

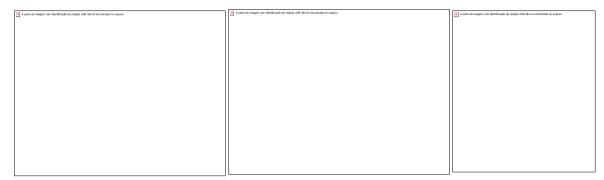


Figura 3. Isolamento Indireto: Disposição do conjunto álcool etílico, hipoclorito, ADA e papel-filtro (A); Lavagem, secagem e transferência dos tecidos para meio BDA (B, C).

Fotos: Ananias Cruz

3.3 Taxa de Crescimento Micelial Diário – TCMD

Foi obtido um total de 56 isolados de colônias purificadas. Desse total, foram selecionados 16 isolados para o teste de Taxa de Crescimento Micelial Diária (TCMD). Quinze isolados de *A. mangium* e um isolado de *Eucalyptus urograndis*. A caracterização fisiológica teve como parâmetro o crescimento micelial em meio de cultura BDA, sob as seguintes condições de incubação: fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 23 °C ± 1. Para o experimento de TCMD foram utilizados placas de Petri padronizadas de 90 mm de diâmetro. Discos de micélio de 5 mm de diâmetro foram retirados da extremidade das colônias e transferido para o centro de placas contendo BDA. A leitura do crescimento diário da colônia foi feita com auxílio de régua milimetrada, medindo-se o diâmetro da colônia em dois sentidos, diametralmente opostos, a partir de 24 horas de incubação. A avaliação da taxa de crescimento foi realizada diariamente, a partir de 24 horas de incubação, até o sexto dia de incubação. Ao final, foi feita a média do diâmetro da colônia, retirando-se a área do disco inicial (Figura 4).

Os dados foram tabulados e as médias utilizadas para construção de gráfico mostrando a taxa de crescimento de todos os isolados testados no período de avaliação (6 dias).

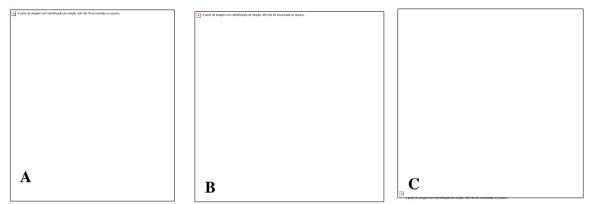
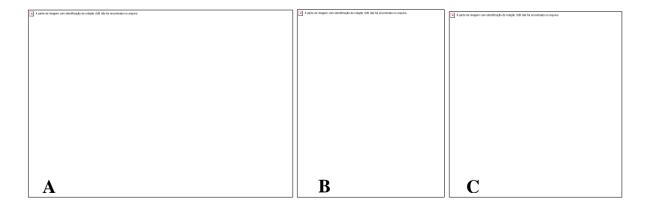


Figura 4. Disposição das placas de Petri durante a incubação para TCMD (A); verso e reverso das colônias após o final do período de incubação e medição da TCMD (B, C). Fotos: Eliana Lopes

3.4 Armazenamento em Castellani

Para o método Castellani foram utilizados frascos de vidro tipo Penicilina, de 14 mL, contendo 7 mL de água destilada e esterilizada (Figura 4). Os frascos + ADE foram autoclavados juntos. Em condições assépticas (câmara de fluxo laminar), discos de micélio de 5 mm foram retirados da periferia de colônias de 7 dias de idade e transferidos para os frascos de vidro. Os frascos foram identificados com etiquetas contendo informações sobre o código e a data para cada isolado, e após isso foram lacrados com tampas de borracha e selados com parafilm (Figura A), e armazenados em ambiente de refrigerador, à temperatura de \pm 4 °C.



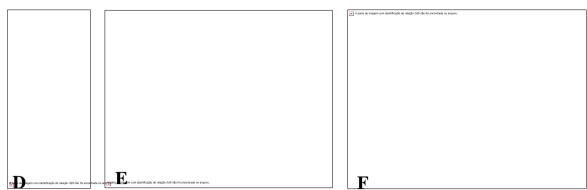


Figura 5. Frascos de vidro contendo discos de micélio, armazenados pelo método Castellani (A); Repicagem dos discos de micélio para novas placas contendo BDA novo (B, C); Frascos de vidro contendo discos de micélio, com etiqueta de identificação (D, E); Placas contendo discos de inóculo para os testes de patogenicidade (F).

Fotos: Eliana Lopes

Os frascos contendo discos de micélio para os testes de patogenicidade foram retirados do refrigerador após o período de 2 meses de armazenamento. Estes discos foram depositados no centro de placas de Petri de poliestireno (descartável) contendo BDA (Figuras C, D, E e F) e mantidas em fotoperíodo de 12 hora para o crescimento micelial.

3.5 TESTE DE PATOGENICIDADE

O teste de patogenicidade foi realizado em folhas destacadas (Figura 6-A), utilizando-se 15 isolados de *A. mangium* e 01 isolado de *Eucalyptus* sp., entre eles, aqueles que apresentaram as melhores taxas de crescimento no teste de TCMD. O ramo apical de *A. mangium*, contendo 6 folhas foram selecionadas para os testes de patogenicidade. Para eucalipto, o mesmo tipo de material botânico foi utilizado. O material foliar foi coletado e disposto em um balde com água (Figura 6-B), em seguida envolto com algodão umedecido e saco plástico (Figura 6-C-D) e armazenado em caixa de isopor contendo gelo e duas camadas de papelão (Figura 6-E), e transportado até o Laboratório de Fitopatologia do INPA, onde foi lavado em água corrente e detergente para a remoção dos resíduos de campo. A seguir, foi desinfestado superficialmente com hipoclorito a 1,5%, e lavado com ADA, antes de ser inoculado. A metodologia empregada foi a inoculação de discos de micélio de 5 mm de diâmetro, oriundos de

colônias crescidas em placas contendo meio BDA, a partir do armazenamento Castellani

Os discos de micélio foram depositados nas faces abaxial e adaxial das folhas, com e sem ferimento. As folhas inoculadas foram dispostas em bandejas plásticas, forrada ao fundo com camada dupla de papel-toalha esterilizado. Chumaços de algodão umedecidos foram dispostos nos quatro cantos das bandejas. As folhas foram presas no fundo das bandejas com fita adesiva e o conjunto foi colocado dentro de sacos plásticos transparentes. Essa câmara úmida foi retirada após 48 horas. A partir desse período foram realizadas as avaliações até o oitavo dia (192 horas), medindo-se o diâmetro da lesão em dois sentidos opostos, retirando-se a média. Os dados foram tabulados e as médias do diâmetro da lesão foram submetidas à Análise de Variância (ANOVA). Para os tratamentos que apresentaram significância foram aplicados o Teste de Scott-Knott a 1% e 5% de probabilidade. O delineamento foi o Inteiramente Casualizado (DIC), em esquema fatorial, com os tratamentos representados por 9 isolados x 2 lâminas foliares (adaxial e abaxial) x 3 repetições.

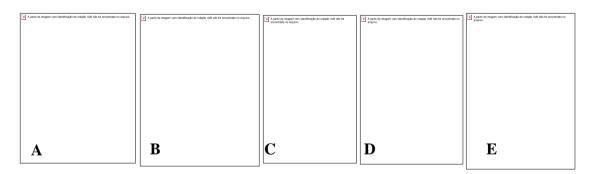


Figura 6: Coleta de material no campo para o Teste de Patogenicidade (A); Material foliar disposto em balde com água (B); Pecíolo envolvido em algodão (C); Amostras com algodão umedecido com água e guardado em saco plástico (D); Material armazenado em caixa de isopor (E).

Fotos: (A, B, C, D) Cleidiane Lopes; (E) Eliana Lopes

3.6 Identificação dos Fungos

A identificação dos fungos foi realizada através do preparo de lâminas semipermanentes, para visualização das estruturas reprodutivas em microscópio óptico. O material utilizado foi fragmentos de colônias crescidas em BDA, após 7 dias de incubação (Figura 7-A). As lâminas foram preparadas colocando-se sobre elas pequenos

fragmentos de micélio do fungo em uma gota do corante azul-de-algodão (Figura 7-B). O fragmento foi coberto com lamínula e visualizado ao microscópio de luz. Além do microscópio, chaves de taxonomia de fungos e bibliografia especializada foram utilizadas na identificação dos fungos.

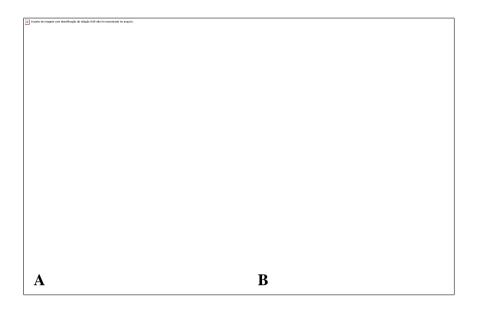


Figura 7: Preparação da lâmina com fragmentos de colônia crescidos em BDA (A); Lâmina contendo corante e fragmentos de micélios do fungo a ser identificado (B).

Fotos: Ananias Cruz

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o presente momento, ainda não foi possível identificar todos os isolados preservados em Castellani e testados nos ensaios de TCMD (Taxa de Crescimento Micelial Diária) e Teste de Patogenicidade.

Entre os isolados testados, 5 foram identificados. São eles: *Pestalotia* sp., *Phomopsis* sp., *Macrophoma* sp., *Cylindrocladium* sp. e *Colletotrichum* sp., todos isolados de lesões foliares.

Apesar de todos os fungos terem sido isolados a partir de lesões foliares e cultura pura em BDA, é possível que a maioria deles não sejam fitopatogênicos para *A. mangium*, uma vez que não desenvolveram reação positiva nos testes de patogenicidade. Nesses testes, apenas *Cylindrocladium* sp. manifestou sintomas típicos queima de *Cylindrocladium* sp. nas folhas.

O isolado A₁ provavelmente está associado à podridão-do-lenho, doença causada por *Lasiodiplodia theobromae*, embora o agente causal ainda não tenha sido identificado, encontrando-se no período de microcultura.

De acordo com Halfeld-Vieira e Gasparotto (2014), a podridão-do-lenho é considerada uma doença de etiologia complexa, associada a uma sucessão de eventos que envolvem mais de um agente causal. Considerando essa hipótese, é possível que a doença não tenha sua etiologia apenas em *Lasiodiplodia theobromae*, mas também de vários agentes causais.

Os autores relatam que no Brasil, a podridão-do-lenho foi diagnosticada desde 2001, em plantios no Estado de Roraima, e os sintomas indiretos descritos foram seca de folhas e galhos situados no terço superior das árvores, sintomas semelhantes aos observados no presente trabalho (Figura 8-A) e podridão do cerne, com degradação típica dos tecidos (Figura 8-B). Halfeld-Vieira *et al.* (2006) conseguiram reproduzir os sintomas da doença em plantas inoculadas com *Lasiodiplodia theobromae*. No Brasil, ainda segundo os autores, o sintoma mais comum é o apodrecimento do lenho no sentido vertical, principalmente a partir de ferimentos causados na operação de poda dos ramos, facilmente observados depois da remoção da casca (Figura 8-C).

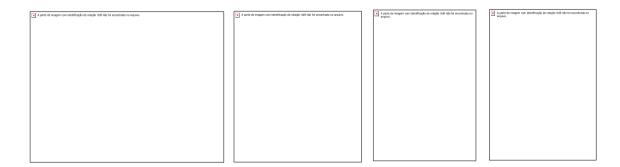


Figura 8: Podridão-do-lenho: Sintoma reflexo em folhas e ramos (A), e sintoma primário (podridão do cerne) observados no campo (B); Sintomas descritos na literatura (C e D).

Fotos A e B (Eliana Lopes) C e D (Bernardo de Almeida Halfeld-Vieira)

Embora a etiologia podridão do lenho tenha sido associada a *Lasiodiplodia* no Brasil, Lee (2012), citando Lee (1986), Lee *et al.* (1988), Hashim *et al.* (1991) e Ito e Nanis (1997), relata vários possíveis agentes causais para a doença, conhecida em língua inglesa como hearthrot. O autor descreve o sintoma como uma zona de descoloração em torno do cerne de *A. mangium* e os fungos isolados dessa zona apodrecida foram fungos citados como invasores, entre eles *Aspergillus* spp., *Ceratocystis fimbriata*, *Chalara* spp., *Fusarium* spp., *Macrophoma* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp. *Pestalotia* spp. *Phialophora* spp., *Rhinocladiella* spp. e *Trichoderma* spp. Esses fungos foram detectados em Papua-Nova Guiné, Malásia,

Índia, Tailândia, Bangladesh e Vietnã (Halfeld-Vieira, 2014). Lee (2002) relata a ocorrência apenas na Malásia e Sabah.

Os sintomas são os mesmos observados em amostras de lenho coletados em plantio de acácia mangio de propriedade da Litiara Indústria Cerâmica da Amazônia Ltda., município de Itacoatiara-AM. Possivelmente, o isolado do lenho (A₁) pode está associado à *Lasiodiplodia theobromae*, o agente etiológico o encontrado causando doença relatado pelos autores citados (Figuras 8B e 8C).

Também foi encontrado o fungo *Ceratobasibium* sp., patógeno polífago e comum na região amazônica, agente causal da Queima-do-Fio, na proporção de 10% das árvores amostradas (Figura 4). A doença é endêmica e ocorre no período chuvoso (Duarte *et al.*2006), atacando mais de 50 espécies de plantas (Gasparotto & Silva, 1999).

É possível que o fungo coletado em plantio de acácia mangio na Litiara Indústria Cerâmica da Amazônia Ltda. seja um dos fungos relatados.

Phomopsis spp., *Pestalotiosis* spp., *Colletotrichum* spp. e *Cylindrocladium* spp. não são citados como patógenos de *A. mangium* na Amazônia.

Em relação à queima-do-fio, causada por *Ceratobasidium* spp. (antigo Corticium koleroga (Cooke Hohn.) = sin. *Pellicularia koleroga* Cooke., o fungo foi encontrado parasitando folhas e ramos de árvores jovens e adultas, exibindo os mesmos sintomas descritos por Halfeld-Vieira & Gasparotto (2014), isto é, seca de ramos e folhas, presença de cordões miceliais (Figura 9) formados de hifas anstomosadas com pequenas ramificações lateriais, que se desenvolvem sobre as partes afetadas, cujas folhas, mortas, se destacam e ficam pendentes, presas umas às outras por filamentos miceliais.



Figura 9. Sintomas e sinais de queima-do-fio em *A. mangium*: folhas e ramos secos (A e B); Cordões miceliais brancos do fungo *Ceratobasidium* spp.

Fotos: Eliana Lopes

4.1 Taxa de Crescimento Micelial Diária (TCMD)

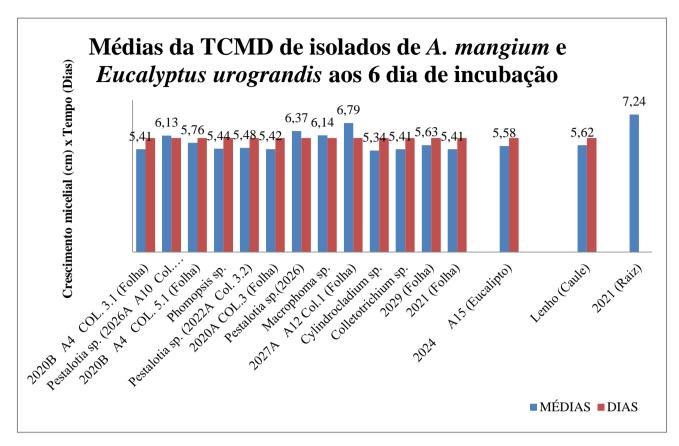


Figura 10: Médias da Taxa de Crescimento Micelial Diária (TCMD) de 15 isolados de *A. mangium* e 1 isolado de *E. urograndis*, aos 6 dias de incubação.

Além da caracterização dos sintomas e a identificação dos isolados, a taxa de crescimento micelial diária em meio de cultura padrão (BDA) é uma característica fisiológica importante que está relacionada à patogenicidade.

No presente trabalho, o isolado de raiz (2021), ainda não identificado e sem teste de patogenicidade, apresentou a maior taxa de crescimento micelial diária, crescendo em média cerca de 7,24 cm em 3 dias. Essa taxa de crescimento não é comum para fungos fitopatogênicos, mesmo tratando-se de fungos de solo, apodrecedores de raiz, sendo mais observado em saprófitas obrigados e contaminantes (Amorim *et al.*, 2011). Para os demais isolados, incluindo o isolado de *E. urograndis*, as médias de crescimento foram determinadas no 6º dia. O gráfico 1 revela que entre os isolados de *A. mangium*, a maior taxa de crescimento foi observada para o isolado 2027A (Amostra 12, Colônia 1.1) e as menores taxas para o isolado 2020B A4 (Colônia 3.1), seguido de *Colletotrichum* sp. e *Pestalotia* sp. (2026, 2026A-A10. Col. 2.1 e 2024A - Col. 3.1,

respectivamente), todos oriundos de isolamentos diretos e indiretos de folhas lesionadas das espécies descritas.

Entre os fungos identificados e testados quanto à patogenicidade (*Pestalotia* sp., *Macrophoma* sp., *Cylindrocladium* sp., *Phomopsis* sp. e *Colletotrichum* sp.,), os três isolados de *Pestalotia* sp., juntamente com *Macrophoma* sp., apresentaram as maiores taxas de crescimentos, todos crescendo acima de 5,48 cm no 6º dia de incubação. *Cylindrocladium* sp., o único isolado que apresentou reação positiva nos testes de patogenicidade, apresentou o menor crescimento, com 5, 34 cm.

Como relatado no parágrafo anterior, o isolado de *Cylindrocladium* sp. foi o único que deu positivo no teste de patogenicidade, porém apresentou desempenho inferior quanto à taxa de crescimento micelial em relação aos demais isolados. Na literatura especializada sobre doenças e patógenos associados à *A. mangium* e *E. urograndis*, não foram encontrados relatos de ensaios de TCMD que pudesse servir de parâmetro de comparação para discussão dos resultados encontrados no presente trabalho. A falta de dados sobre o assunto, não diminui a importância da taxa de crescimento micelial fúngico para fins de taxonomia e identificação (Amorim *et. al.*, 2011).

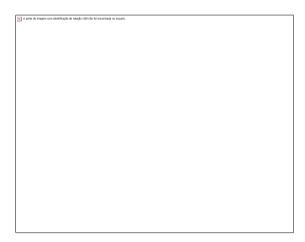


Figura 11: Disposição das placas de Petri no ensaio para determinação da taxa de crescimento micelial diária (TCMD), aos 6 dias de incubação.

Fotos: Eliana Lopes

As colônias e estruturas reprodutivas de alguns fungos encontrados e identificados em *A. mangium* são mostradas na Figura 11, abaixo:



Figura 12: Colônias e estruturas reprodutivas de fungos isolados de *A. mangium:* Colônia de 7 dias de *Pestalotia* sp. em BDA (A); Conídios de *Pestalotia* sp. (B); Colônia e conídios tipo beta de *Phomopsis* sp. (C, D); Colônia de *Colletotrichum sp.* (E); Massa alaranjada de conídios e conídios de *Colletotrichum* sp. (F, G); Conídios de *Cylindrocladim* sp. (H).

Fotos: Eliana Lopes

4.3 Teste de Patogenicidade

A análise de variância (ANOVA) (Tabela 1) revelou interação altamente significativa para os fatores isolado x tipo de folha (adaxial e abaxial), além da interação entre os fatores, em relação ao diâmetro da lesão, conforme tabela abaixo:

Tabela 1. Análise de Variância (ANOVA) dos resultados para os testes de patogenicidade

FV	GL	SQ	QM	F
Isolado (F1)	8	238.71000	29.83875	201.8953 **
Limbo Foliar (F2)	1	2.39562	2.39562	16.2093 **
Int. Isol.x Limbo	8	9.01494	1.12687	7.6246 **
	17	250.12056	14.71297	99.5511 **
Tratamentos Resíduo	17	230.12036	0.14779	99.3311
Kesiduo			0.14779	
_ Total	161	271.40278		

^{**} significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < .01)

^{*} significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =) ns não significativo (<math>p > = .05)

A análise de variância dos testes de patogenicidade para diâmetro da lesão em folhas destacadas de *A. mangium* é mostrada na ANOVA

Os resultados da ANOVA mostram efeito altamente significativo para os 3 fatores testados (isolado, limbo foliar e interação isolado x limbo foliar), ao nível de 1% de probabalidade. A partir dos resultados apresentados na ANOVA, foram realizados testes de média, optando-se pelo Teste de separação de média de Scott-Knott e os resultados são apresentados nas tabelas abaixo:

Tabela 2: Teste de Médias para isolados, mostrando diferença significativa entre os isolados testados em relação ao diâmetro da lesão.

Isolado	Médias (*)	
Cylindrocladium sp (2020 A ₄ ,Col.2.2)	3.58333 a	
Cylindrocladium sp. (2022B Col. 3)	3.11111 b	
Cylindrocladium sp. (2025 A ₉ Col.1.1)	3.05556 b	
2022A Col.2	1.92222 c	
Pestalotia sp (2024B -2)	0.85000 d	
2020 A ₄ Col. 5	0.79444 d	
Colletotrichum sp. (2024 A ₄ Col. 2)	0.50000 e	
Phomopsis sp. (2020B Col.5.1)	0.50000 e	
Testemunha	0.50000 e	

^(*) Médias seguidas da mesma letra minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pela teste de Scot-Knott, ao nível de 1% de probabilidade.

O teste estatístico revelou que houve diferença altamente significativa entre os isolados testados, com o isolado 2020 A, identificado como *Cylindrocladium* sp., apresentado o maior diâmetro média de lesão (3,58 cm), superior aos demais isolados. Os outros dois isolados de *Cylindrocladium* sp. (2022B Col 3 e 2015 A₉ Col. 1.1) não apresentaram diferença significativa entre si, porém apresentaram menor diâmetro de lesão que o anterior (2020 A).

Os isolados 2022A Col. 2 e 2020 A₄, Col. 5, além dos isolados identificados como *Pestalotia* sp. (2024B - 2), *Colletotrichum* sp. (isolado 2024 A₄, Col. 2) e

Phomopsis sp. (isolado 2020B, Col. 5.1) apresentaram diâmetro de lesão inferior aos três isolados de *Cylindrocladium* sp., sendo que *Colletotrichum* sp. e *Phomopsis* sp. não diferiram da Testemunha.

A Tabela 2 mostra que houve diferença estatística altamente significativa em relação ao diâmetro da lesão entre isolados inoculados com *Cylindrocladium* sp. A diferença entre os referidos isolados pode ser percebida por observação visual (Figura 11-A).

A Figura 12 mostra folhas destacadas sadias de *A. mangium* em câmara úmida, durante o Teste de Patogenicidade realizado através da inoculação artificial com discos de micélio, aos 6 dias de incubação.

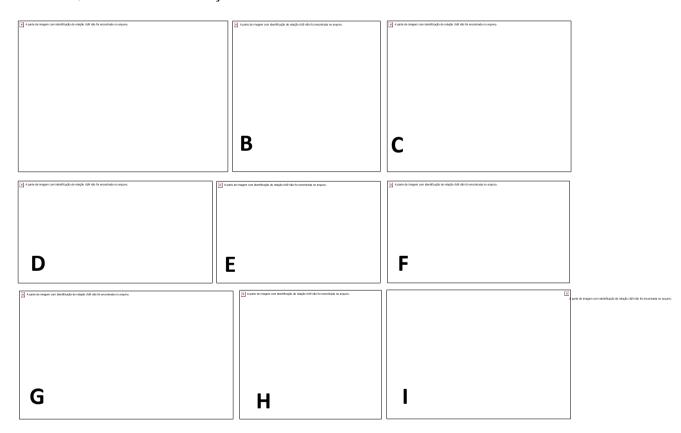


Figura 13: Lesões foliares em folhas destacadas de *A. mangium*, resultantes de inoculação artificial com discos de micélio: *Cylindrocladium* sp. (A, B e C); Isolado 2022A, Col. 2 (não identificado) (D); *Pestalotia* sp.(Isolado 2024B - Col. 2) (E); Isolado 2020 A₄ Col. 5 (F); *Colletotrichum* sp. (Isolado 2024 A₄ Col.2) (G); *Phomopsis* sp. (Isolado 2020B-Col. 5.1) (H); Testemunha (I). Notar diferença no diâmetro da lesão entre os isolados de *Cylindrocladium* sp.

Fotos: Eliana Lopes

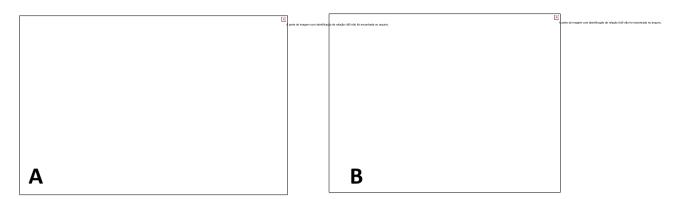


Figura 14: Teste de patogenicidade em folhas destacadas de *Eucalyptus urograndis*, inoculadas com discos de micélio de 5 mm de diâmetro, aos 6 dias de incubação, no isolado 2029A-15, Col. 4.1 (A); Testemunha (B).

Fotos: Eliana Lopes

Tabela 3: Médias para o tipo de limbo foliar (Adaxial x Abaxial), mostrando diferença significativa em relação ao diâmetro da lesão.

Limbo Foliar	Médias ^(*)	
Face Adaxial	1.76790 a	
Face Abaxial	1.52469 b	

^(*) Média seguida da mesma letra minúscula na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scot-Knott, ao nível de 1% de probabilidade.

A face foliar do limbo teve efeito altamente significativo no tamanho da lesão, ao nível de 1% de probabilidade, pelo Teste de Scott-Knott. No presente estudo, a inoculação do disco de micélio na face adaxial das folhas de *A. mangium* proporcionou maior diâmetro de lesão que a inoculação na face abaxial. O resultado contraria alguns trabalhos que associam o diâmetro da lesão ao número de estômatos na face abaxial da folha, que facilitaria a penetração e a colonização do tecido do hospedeiro pelo patógeno, e consequentemente maior lesão.

Tabela 4. Médias da interação Isolado x Limbo Foliar (Adaxial x Abaxial), mostrando diferença significativa em relação ao diâmetro da lesão em Cylindrocladium sp.

Isolado x Limbo foliar (Adaxial x Abaxial)

	A	B Limbo (*)		
(**)		B Adaxial (**)	B2	
	Cylindrocladium sp (2020 A ₄ ,Col.2.2	4.0444 aA	3.1222 aB	
	Cylindrocladium sp. (2022B Col. 3)	3.2222 bA	3.0000 aA	
	Cylindrocladium sp. (2025 A ₉ Col.1.1)	2.8000 cB	3.3111 aA	
	2022A Col.2	2.4889 cA	1.3556 bB	
	Pestalotia sp (2024B -2)	0.9444 dA	0.7556 cA	
	2020 A ₄ Col. 5	0.9111 dA	0.6778 cA	
	Colletotrichum sp. (2024 A ₄ Col. 2)	0.5000 eA	0.5000 cA	
	Phomopsis sp. (2020B Col.5.1)	0.5000 eA	0.5000 cA	
	Testemunha	0.5000 eA	0.5000 cA	

^(*) Colunas - letras minúsculas Linhas - letras maiúsculas

Também houve efeito significativo e altamente significativo em relação à interação isolado x tipo de face foliar e dentro da face foliar, respectivamente.

A análise da interação do isolado dentro das duas faces da lâmina foliar mostra que houve efeito significativo e diferencial para as faces adaxial e abaxial, sendo mais importante o efeito do isolado dentro de cada lâmina foliar. Isso significa que houve menor variação do diâmetro da lesão, na interação isolados x tipo de limbo foliar, representado pelas letras maiúsculas, na horizontal, que na interação do isolado dentro de cada limbo (adaxial e abaxial), representada pelas letras minúsculas, na vertical.

Entre outras hipóteses, os resultados poderiam sugerir que a patogenicidade, verificada apenas para os isolados de *Cylindrocladium* sp., estaria também relacionada às características do limbo foliar e às propriedades de patogenicidade intrínsecas ao patógeno, considerando o diâmetro da lesão, na comparação das médias.

^(**) Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e da mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao n[ivel de 5% de probabilidade.

No entanto, considerando apenas os atributos da patogenicidade, poderíamos levantar a hipótese de que a virulência, no caso específico do patossistema *Cylindrocladium* sp. x *A. mangium*, estaria condicionada a barreiras existentes no limbo foliar, que dificultaria a penetração e colonização do patógeno nos tecidos do hospedeiro, mais importantes que os próprios mecanismos bioquímicos de virulência relacionados ao patógeno, tais como enzimas, toxinas e ácidos orgânicos, destinados a superar essas barreiras no hospedeiro.

No caso do parágrafo anterior, é possível que tenha acontecido as duas hipóteses levantadas, com predominância dos atributos de patogenicidade inerentes aos isolados identificados como *Cylindrocladium* sp., mas não descartando a possibilidade da perda de constituintes bioquímicos importantes nos mecanismos de defesa das folhas destacadas, além das barreiras mecânicas formadas pela diferença (de pelos inclusive) entre o limbo abaxial e adaxial da lâmina foliar.

Deve-se destacar, também, que a maior densidade de estômatos na face abaxial, não influenciou no diâmetro da lesão, uma vez que as lesões da face adaxial foram maiores que as observadas na face abaxial. Considerando que os fungos podem penetrar e causar lesões através das aberturas naturais do hospedeiro (estômatos, hidatódios, lenticelas), por ferimentos e através da superfície íntegra da superfície da planta, é provável que a forma de penetração no hospedeiro não tenha influenciado no diâmetro das lesões observadas no teste de patogenicidade com isolados de *Cylindrocladium* sp.

Deve-se considerar também o método de inoculação adotado no presente trabalho, assim como o uso de folhas destacadas.

A inoculação com discos de micélio é considerada um método drástico, porque não reproduz a condição natural de infecção observado na natureza. Pelo contrário, o contato do micélio (estruturas vegetativas) diretamente com o tecido do hospedeiro pode levar a uma rápida degradação dos constituintes da cutícula e da epiderme do limbo foliar do hospedeiro, podendo até mascarar a expressão dos sintomas no teste de patogenicidade (Bridge, 1985). Segundo o autor, as substâncias bioquímicas (enzimas, toxinas, etc) utilizadas para superar as barreiras mecânicas presentes nas folhas são

produzidas nas extremidades das hifas, que são estruturas microscópicas que compõem o micélio do fungo.

No entanto, o método do disco de micélio é indicado quando a maioria dos isolados testados não produz estruturas reprodutivas, tais como conídios e outras formas de esporos, necessárias ao preparo da suspensão para sua posterior inoculação. No presente trabalho, a escolha do método de inoculação através de discos de micélio teve como pressuposto a ausência de esporulação, na maioria dos isolados testados.

O método de inoculação que mais se aproxima do ciclo das relações patógenohospedeiro na natureza, durante o processo doença, é a inoculação através da
pulverização de uma suspensão de conídios na superfície de ambos os limbos foliares,
na concentração indicada na literatura. Nesse método, as unidades infectivas (conídios)
entram em contato com o tecido hospedeiro na inoculação, iniciando os eventos da
patogênese, descritos como adesão, germinação dos conídios (emissão do tubo
germinativo ou promicélio), penetração (através de estruturas especializadas chamadas
apressórios), colonização e, finalmente, estabelecimento e expressão de sintomas, com a
produção de novas estruturas reprodutivas na superfície da lesão.

Por outro lado, o método de inoculação em folhas destacadas do hospedeiro pode ser indicado e justificado quando não há mudas disponíveis para a realização dos testes de patogenicidade (Carmo *et al.*, 2015). Isto porque em alguns casos, dependendo da espécie de fungo, do genótipo da planta, do tempo após a inoculação (DAI) (no presente trabalho, 192 horas de incubação), o uso de folhas destacadas pode influir no metabolismo e na resistência da planta.

De acordo com Kamikoga, apud Carmo et al. (2015), Erisyphe polygoni, agente causal do oídio em soja, apresentou diferença na patogenicidade quando inoculado em folhas destacadas de soja (Glicyne max Merril. Relatam que cultivares de soja que apresentaram poucos sintomas da doença em condições de folhas destacadas e casa de vegetação comportaram-se como resistentes no campo, apresentando pouco ou nenhum sintoma da doença, mesmo na presença de níveis elevados de inóculo do fungo. Dessa forma, afirmam os autores, as cultivares avaliadas em folhas destacadas reagiram como MR (muito resistentes) ao fungo ou não diferiram da testemunha aos 7 dias após a

inoculação (DAI). No presente trabalho não se pode fazer a comparação do desenvolvimento dos sintomas nas três condições testadas pelos autores. Com base nos resultados obtidos pelos autores, é provável que os isolados de *Cylindrocladium* sp. que produziram sintomas em folhas destacadas de *A. mangium* poderiam apresentar maiores diâmetros de lesão em condição de mudas no campo.

Há relatos na literatura especializada afirmando que ensaios de inoculação em folhas destacadas podem levar à diminuição ou até mesmo à paralisação da síntese de substâncias de defesa importantes durante a fase de penetração e colonização do patógeno. O período de incubação de 192 horas (6 dias) e a diminuição de substâncias de defesa na folha destacada pode ter influenciado no tamanho da lesão entre os isolados de *Cylindrocladium* sp. testados no presente trabalho, porém, é provável que não tenha influenciado a reação negativa no teste de patogenicidade, verificada na inoculação com os demais isolados testados.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- a) Os isolados de *Cylindrocladium* sp. deram reação positiva nos testes de patogenicidade em folhas destacadas de *A. mangium*;
- b) Este é o primeiro relato da ocorrência de manchas foliares causadas por Cylindrocladium sp. em Acacia mangium no Brasil;
- c) A identificação de *Cylindrocladium* sp. como agente causal de manchas foliares em *A. mangium* viabiliza a adoção de práticas de manejo integrado para o controle da doença;
- c) Os isolados de *Phomopsis* sp., *Pestalotia* sp., *Colletotrichum* sp. e *Macrophoma* sp. foram identificados em associação com lesões foliares em *A. mangium*, porém deram reação negativa nos testes de patogenicidade;
- d) Os isolados de *Cylindrocladium* sp. apresentaram as menores taxas de crescimento entre todos os isolados testados;
- e) O isolado de eucalipto deu reação negativa nos testes de patogenicidade em folhas destacadas de *E. urograndis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. (Ed.) **Métodos em Fitopatologia.** Editora UFV, Viçosa, 2007. 282 p.

BARRY, K. (Ed.) IRIANTO, R.S.B.; TURJAMAN, M.; WIDYATI, E.; SITEPU, I.; MOHAMMED. C.L. Incidence of herthrot in harvest-age *Acacia mangium* in Indonesia, using a rapid survey method. **Forest Ecology and Management,** Amsterdam, v. 190, p. 273-280, 2004.

BALIEIRO, F. de C..; ZULLI, J. E.; PRIN, Y.; FARIA, S. M. de F. Nodulação e fixação biológica de nitrogênio (FBN) em *Acacia mangium*. Cap. 3. In TONINI, H.; HALFELD-VIEIRA, B. de; SILVA, S. J. R. da. *Acacia mangium*: características de seu cultivo em Roraima, p. 33-61. Brasílai, Embrapa Informação Tecnológica, Boa Vista: Embrapa Roraima, 2010.CAIRES, N.P. Processo infeccioso de *Botrytis cinerea* em folhas de Eucalipto. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa (UFV), 2013. (Dissertação de Mestrado), 27 p.

BRACELPA, Relatório Estatístico Florestal. GT - Reflorestamentos e correlatos. Brasília, 2006 .57 p.

CROUS, P. W. *Mycosphaerella* spp. and their anamorph associated with leaf spot diseases of *Eucaluptus*. Stellenbosch, Department of Plant Pathology of the Universitiy of Stellenbosch., 1998. 170p.

DUARTE, M.L.R.; PESSÔA, D. N.; LIMA, W. G.; POLTRONIERI, L. S. **Tolerância de** *Koleroga noxia*, **agente da queima-do-fio da pimenteira-do-reino a fungicidas cúpricos.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 56). 21 p.

EYLES, A.; BEADLE, K.; BARRY, K.; FRANCIS, A.; GLEN, M.; MOHAMMED, C. Management of fungal root-rot pathogens in tropical *Acacia mangium* plantations. **Forest Pathology**, v. 38, n. 5, p. 332-355, 2008.

FAO. Eucalypts for planting. FAO forestry series, n.11.1981.

FERREIRA, C.A.; SILVA, H.D. da *Eucalyptus* para a região amazônica e Estados do Acre e Rondônia. Embrapa Florestas, Colombo, 2004 (Comunicado Técnico 116).

GASPAROTTO, L.; SILVA, S.E.L. Novos hospedeiros de *Pellicullaria koleroga* no Estado do Amazonas **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 3, p.489. 1999.

GASPAROTTO, L. Doenças de espécies florestais arbóreas nativas e exóticas na Amazônia. In: GASPAROTTO, L.; BENTES, J. L. da S.; PEREIRA, J. C. R. Doenças da *Acacia mangium* (Cap. 19). **Prefácio.** 2014, 209 p.

CATIE. Mangium (*Acacia mangium* Willd.) **Especie de árbol de uso múltiple en América Central**. Turrialba: CATIE, 1992, 56 p. (Coleción de Guias Silviculturales, 5).

- HALFELD-VIEIRA, B.D.; HANADA, R. E.; NECHET, K.L. Contribuição de *Lasiodiplodia theobromae* no desenvolvimento da podridão-do-lenho em *Acacia mangium*. XXXVII Congresso de Fitopatologia. Brasília, **Fitopatologia bras.**, v. 30, p. 107, 2005. (Suplemento).
- HALFELD-VIEIRA, B.A.; NECHET, K.L. First report of powdery mildew of Acacia mangium in Brazil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v 35, n. 3, p. 237, 2009.
- HELFELD-VIEIRA, B. de A.; NECHET, K. de; GASPAROTTO, L. Doenças da *Acacia mangium*. Cap. 1. In: GASPAROTTO, L.; BENTES, J.L. da S.; PEREIRA, J.C.R. **Doenças de espécies florestais nativas e exóticas na Amazônia.** Embrapa Amazônia Ocidental. Brasília, 2014. 209 p.
- LEMMES, R. H. M. J.; SOERIANEGARA, I.; WONG, W.C. **Plant Resources of South-East Asia**, v. 5, n. 2. Timber trees: Minor commercial timbers. Backhuys Publishers, Leiden, 1995. 655 p.
- LEE, S. Diseases and potencial threats to *Acacia mangium* plantations in Malaysia. **Unasilva**, v. 234, n. 55, p. 31-35. 2004.
- LEE, S.S.; TENG, S.Y.; LIM, M.T.; KADER, R.A. Discoloration and heart rot of *Acacia mangium* Wild: some preliminary results. **Journal of Tropical Forest Science,** Kuala Lumpur, v, 1, n. 2, p. 170-177, 1988.
- LEE, S. S. The current of root diseases of *Acacia mangium* Wild. Forest Research Institute Malaysia. Kuala Lumpur, (pp. 71-79). 2000.
- MACKEY, M. *Acacia mangium*: Un árbol importante para llanuras tropicales. **Hojas Informativa Fact 96-01S,** Arizona, 1996, 4p.
- MEDINA, A.L.; PINZÓN-FLORIÁN, D. Phytophagous insects in commercial plantations of *Acacia mangium* Wild. on the Atlantic Coast and eastern plains of Colombia. **Colombia Forestal**, v. 14, n. 2, p. 175-188, 2011.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Management and other fast-growing acacias for the humid tropics.** Academic Press, Washington D.C, 1983. 62 p.
- OLD, K. M.; SEE, L.S.; SHARMA, J.K.; YUAN, Z.Q. A manual of diseases of tropical acacias in Australia, South-East Aasia and India. CIFOR, Indonesia, 2000, 104 p.
- REDDELL, P.; WARREN, R. Inoculation of Acacias with micorrhizal fungi: potencial benefits. In: **Australiana Acacias in Developing Countries. ACIAR Proceedings**, n. 16, p. 50-53, 1986.
- RODAS, C.A.; GRYZENHOUT, M.; MYBURG, H.; WINGFIELD, B.D.; WINGFIELD, M.J. Discovery of the Eucalyptus canker pathogen *Chrysoporthe cubensis* on native *Miconia* (Melastomataceae) in Colombia. **Plant Pathology**, v. 54, n. 460-470, 2005.

- RODRÍGUEZ-PETIT, A.; CLAVERO, T.; RAZZ, R. Efecto de la altura y la frecuencia de poda em la produción de materia seca de *Acacia mangium* Willd. **Revista Forestal Centroamericana**, Turrialba, n. 35, p. 38-40, 2001.
- ROSSI, L.M.B.; AZEVEDO, C.R.; SOUZA, C.R. de. *Acacia mangium*. Embrapa Amazônia Ocidental, Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental. Manaus, 2003. 29 p. (DOCUMENTOS, 28).
- ROSSI, L. M. B.; AZEVEDO, C. P.; LIMA, R. M. B. Comportamento inicial de espécies florestais potenciais para plantios em áreas alteradas na Amazônia. In: Simpósio Nacional de Recuperação de Áreas Degradadas, 4, 2000, Blumenau. **Anais**.
- SELAMAT, K.B. Trials of *Acacia mangium* at the Sabah Forestry Development Authority. In: Advances in tropical acacia research. Canberra: ACIAR, 1991. (ACIAR Proceedings, 35) p. 224-226.
- SMIDERLE, O. J.; JUNIORLL, M.M.; SOUSALL, R.C.P. Tratamentos pré germinativos em sementes de acácia. **Rev. bras. sementes**, Pelotas, vol.27, no.1 Pelotas, 2005.
- SOUZA, C.R.; AZEVEDO, C.P.; LIMA, R. M.; ROSSI, LA. M.B. Comportamento de espécies florestais em plantios a pleno sol e em faixas de enriquecimento de capoeira na Amazônia. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n.1, p. 127-134, 2010.
- TARIGAN, M.; ROUX, M.; WYK, van; TJAHJONO, B.; WINGFIELD, M.J. A new wilt and die-back disease of *Acacia mangium* associated with *Ceratocystis manginecans* and *C. acaciivora sp. nov.*in Indonesia. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 2. 2013, p. 292-304.
- TONINI, H.; HALFED-VIEIRA, B. A. Desrama, crescimento e predisposição à podridão-do-lenho em *Acacia mangium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v 41, n.7, p. 1077-1082, 2006.
- TONINI, H.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; SILVA, S.J.R. *Acacia mangium*: Características e seu cultivo em Roraima, Brasília. Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 145 p.
- TONINI, H.; HALFELD-VIEIRA, B.A. Desrama, crescimento e predisposição à podridão-do-lenho em *Acacia mangium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 7, p. 1077-1082, 2006.
- TONINI, H.; HALFELD-VIEIRA, B.A.; SILVA, S.J.R. Acacia mangium: Características e seu cultivo em Roraima. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2010. 145 p.
- WILCKENK, C.F.; LIMA, A. C. V.; DIAS, T. K. R.; MASSON, M. V.; FILHO, P. J. F. Guia Prático de Manejo de Plantações de Eucalipto. Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais (Fepap). Unesp, Botucatu, 2008. 18p.

YARED, J.A.G.; VIANA, L.M.; KANASHIRO, M. Ensaios de procedências de *Acacia mangium* Willd. no Planalto do Tapajós. Belém. **Boletim de Pesquisa Embrapa/CPATU,** n. 107, 1990. 19 p.

VALE, A. T. Produção de energia do fuste de *Eucalyptus grandis* Hills. Ex-Maiden e *Acacia mangium* Willd. em diferentes níveis de adubação. **Cerne** v. 6, n. 1, 2000, p. 83-88.