

EFEITO DE FUNGOS TERMÓFILOS SOBRE MADEIRA DE *Eucalyptus saligna*. III. A POPULAÇÃO FÚNGICA

Sônia Maria Prado Guilmo^{*}
Celso Garcia Auer^{**}
Luiz Ernesto Georges Barrichelo^{***}

RESUMO

Este é um trabalho complementar a uma série de estudos com fungos termófilos, em madeira de eucalipto. Seu objetivo foi determinar a ação de uma população de fungos termófilos sobre a madeira e a celulose, obtida com cavacos de madeira de *Eucalyptus saligna*. Amostras de cavacos secos ao ar foram esterilizadas por autoclavagem. Após a inoculação, os cavacos foram incubados, por 30 dias, a 30, 40 e 50°C. O inóculo foi preparado com uma amostra de 20 g de cavacos naturalmente contaminados com os fungos: *Aspergillus* sp., *Dactylomyces thermophilus*, *Penicillium bacillisporum*, *Rhizomucor* sp., *Sporotrichum* sp. e *Thermoascus aurantiacus*. Os cavacos foram analisados quanto aos teores de holocelulose, lignina e extrativos. Preparou-se, também, celulose não branqueada com os cavacos dos tratamentos e analisou-se o rendimento bruto da celulose. A análise dos resultados mostrou que os teores de holocelulose e lignina permaneceram inalterados revelando que os fungos não degradam celulose ou lignina. A diminuição nos teores de extrativos começaram a ser detectados a 40 e 50°C, exceção feita aos açúcares livres em etanol. O maior decréscimo ocorreu a 50°C. O decréscimo no teor foi observado na fração solúvel em etanol-tolueno (19,3%), em diclorometano (7,1%) e em água quente (4%); com extrativos totais e açúcares livres em etanol, o decréscimo foi de 8,6% e 4,8%, respectivamente. A análise da produção de celulose não branqueada verificou-se uma relação direta entre produção e a temperatura de incubação. Cavacos não inoculados e os inoculados/incubados a 30°C produziram 50,8% de celulose, enquanto que os incubados a 40 e 50°C produziram 52 e 53,1%, respectivamente.

EFFECT OF THERMOPHILIC FUNGI ON WOOD OF *Eucalyptus saligna*. III. THE FUNGAL POPULATION

ABSTRACT

This article is a complementary work from a serial study with thermophilic fungi, on wood chips of *Eucalyptus saligna*. Its objective was to determine the action of a thermophilic fungi population on wood and the pulp produced from that colonized wood. Air-dry samples of chips were sterilized by steam vapor. The inoculum was

* Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal, Boisista da FAPESP, ESALQ/USP.

** Eng. Florestal, Doutor, CREA nº 136.821 /D, Pesquisador da *Embrapa Florestas*.

*** Eng.-Agrônomo, Doutor, CREA nº 35104/D, Professor Titular, Depto. de Ciências Florestais ESALQ/USP.

prepared with a 20-g sample of chips naturally infected by the fungi: *Aspergillus* sp., *Dactylomyces thermophilus*, *Penicillium bacillisporum*, *Rhizomucor* sp., *Sporotrichum* sp. and *Thermoascus aurantiacus*. After inoculation, chips were incubated under 30, 40 and 50°C, for 30 days. Chips were analyzed in relation to the content of cellulose, lignin and extractives. Unbleached pulp was produced with chips from treatments. No alteration on cellulose and lignin contents was observed, showing that fungi are not lignocellulolytic. It was not observed decrease on extractives contents at 30°C; the higher one occurred at 50°C, exception to sugar ethanol extractable. Reduction of contents was detected on ethanol-toluene (19,3 %), dichloromethane (7,1%) and hot water (4%) extractables; the decrease on total extractives and sugar ethanol-extractable was 8,6% and 4,8%, respectively. Analyzing unbleached pulp production, it was observed a close relationship between production and incubation temperature. Control and colonized chips at 30°C produced 50,8% of pulp and the production with chips incubated at 40 and 50°C was 52 e 53,1%, respectively.

armazenamento de matéria-prima, em fábricas de celulose, devido às facilidades de transporte, manuseio e economia de espaço, em relação ao uso de toras. Uma das desvantagens é o auto-aquecimento da pilha de cavacos como consequência da oxidação de compostos químicos da madeira e do ataque de microrganismos termófilos (Eslyn, 1973).

Pilhas de cavacos de madeira, auto-aquecidas, são o habitat de fungos termófilos (Tansey, 1971), os quais atacam a madeira e consomem os componentes acidentais (extrativos), a lignina e as celulosas (Sharma, 1989). A produção de celulose pode ser afetada, quando do ataque de fungos termófilos. Bjorkman & Haeger (1963) registraram uma queda de 19,2%, na celulose produzida com cavacos de *Pinus silvestris*, originados de uma pilha auto-aquecida por 15 meses. Segundo os autores, a queda foi resultado da ação de fungos termófilos celulolíticos.

No Brasil, algumas pesquisas com fungos termófilos foram desenvolvidas, Auer et al. (1988), estudando o auto-aquecimento de pilhas de cavacos de *Eucalyptus* spp. encontraram seis fungos termofílicos associados. Dentre estes, *Thermoascus aurantiacus* Miede revelou-se capaz de degradar extrativos de madeira de *E. saligna* Sm. (Auer et al., 1987). Outros estudos feitos com termófilos e madeira de *E. saligna* revelaram que cada fungo possui uma atividade específica sobre extrativos da madeira (Prado et al., 1991; Guilmo et al., 1993). Além de eliminar componentes da madeira, os fungos podem elevar o teor de extrativos solúveis, como, por exemplo, o caso do aumento de açúcares livres em cavacos colonizados por *T. aurantiacus*, provavelmente, em função da hidrólise enzimática da hemicelulose (Prado et al., 1991). Não se conhece, entretanto, o mecanismo da degradação em condições naturais, ou seja, a ação da população fúngica termófila.

Este trabalho teve por objetivos verificar as alterações das características químicas e a produção de celulose de madeira de *E. saligna*, sob a ação de uma população de fungos termófilos.

Para este estudo, foram desenvolvidos dois ensaios nos laboratórios de Fitopatologia e do Setor de Química, Celulose e Papel, da ESALQ/USP. O primeiro analisou o efeito sobre a composição da madeira atacada e o segundo o efeito sobre a produção de celulose. Os ensaios foram montados com três tipos de cavacos de madeira de *E. saligna*: 1) sem tratamento - controle; 2) cavacos esterilizados por autoclavagem e 3) cavacos esterilizados e inoculados. Após a montagem dos ensaios, os cavacos inoculados foram mantidos em incubação, por 30 dias, em estufas controladas a 30, 40 e 50°C. O inóculo foi uma amostra de 20 g de cavacos

retirada de uma pilha naturalmente infestada com fungos termófilos. Para verificar a composição da população presente no inóculo, fez-se um isolamento e identificação dos fungos de acordo com as descrições taxonômicas de Cooney & Emerson (1964). Foram encontrados os fungos *Aspergillus sp.*, *Dactylomyces thermophilus Sopp.*, *Penicillium bacillisporum Swift*, *Rhizomucor sp.*, *Sporotrichum sp.* e *T aurantiacus*.

Com os dados obtidos, foi feita a análise estatística para verificar o efeito dos tratamentos sobre os teores de componentes químicos da madeira, e realizada a comparação das médias com o teste de Tukey. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições.

Para o ensaio de produção de celulose, os cavacos recém-picados e secos ao ar foram submetidos a 4 tratamentos: (1) controle; (2) esterilizados inoculados e incubados a 30°C, (3) a 40°C; e (4) a 50°C. Os cavacos foram colocados em 5 frascos de Erlenmeyer de 500 ml, por tratamento. Os frascos foram inoculados e incubados por 30 dias.

Para a determinação dos teores de holocelulose, lignina e extrativos, produção de celulose não branqueada e rendimento bruto de celulose, empregou-se a metodologia descrita por Prado et al. (1991). Para o cozimento dos cavacos e produção de celulose, foram empregados 1298 g de cavacos e uma solução (licor) contendo 14% de álcali ativo, 25% de sulfidez e 240 g/l de Na₂O ativo e atividade final de 100%. A proporção licor:madeira foi 5:1. O tempo para se chegar à temperatura máxima de cozimento (170°C) foi de 80 minutos e o tempo de cozimento foi de 30 minutos.

A análise dos resultados do primeiro ensaio revelou que os teores de holocelulose e de lignina permaneceram praticamente inalterados, sob qualquer um dos tratamentos (Tabela 1). A ausência de efeito sobre estes compostos foi devida à incapacidade dos fungos testados em degradá-los, como foi apontado por Guilmo et al. (1993) e Prado et al. (1991). Os resultados mostraram que os fungos termófilos presentes não devem ser celulolíticos, ao contrário do que a literatura pode apresentar (Sharma, 1989).

Quanto aos extrativos, houve diminuição dos teores, pela ação dos fungos (Tabela 1). Os cavacos inoculados e incubados a 30°C apresentaram teores próximos aos dos esterilizados. Decréscimos proporcionais à temperatura começaram a ser detectados a 40 e 50°C, excetuando-se para os açúcares livres em etanol (Tabela 1). Comparando-se os teores de extrativos dos cavacos inoculados com os do controle, verificou-se que a maior queda ocorreu a 50°C. O decréscimo no teor foi observado na fração solúvel em álcool-tolueno (19,3%), extrativos totais (8,6%), solúvel em diclorometano (7,1%), açúcares livres (4,8%) e a fração solúvel em água quente (4%).

A menor degradação dos cavacos a 30°C pode ser atribuída à fraca capacidade dos fungos em atacar a madeira, à seletividade dos fungos para determinados compostos (Prado et al., 1991), ou simplesmente à variedade de fungos presentes. O decréscimo nos teores dos extrativos pode ser explicado pelo aumento da atividade degradativa dos fungos em maiores temperaturas, notadamente daqueles que possuem um desenvolvimento ótimo a 50°C, durante o período de incubação.

TABELA 1. Teor (%) de celulose, lignina e extrativos em cavacos de *Eucalyptus saligna* colonizados por uma população de fungos termófilos, em diferentes temperaturas, por 30 dias.

Tratamento	Teor						Açúcar livre em etanol (g/l)	
	Holocelulose	Lignina	Extrativo Total	Extrativo Água Quente	Extrativo Diclorometano	Extrativo Etanol-Tolueno		
Controle	70,8* ^a	24,2 ^a	5,6 ^a	2,0 ^a	1,1 ^a	2,5 ^a	0,92 ^a	
Inoculação / Incubação a:	30 °C	70,8 ^a	24,2 ^a	5,5 ^a	2,0 ^a	1,1 ^a	2,5 ^a	0,42 ^b
	40 °C	71,0 ^a	24,1 ^a	5,3 ^a	1,9 ^a	1,1 ^a	2,2 ^a	0,40 ^b
	50 °C	70,9 ^a	24,1 ^a	5,1 ^b	1,9 ^a	1,0 ^a	2,0 ^a	0,40 ^b

* Valores são média de 5 repetições (frascos de Erlenmeyer). Médias, dentro de colunas, seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey, $P < 0,05$).

A análise do segundo ensaio revelou que o rendimento em celulose variou com o tipo de cavaco empregado. Os cavacos não tratados apresentaram, em média, um rendimento bruto de 50,8% contra 51,3%, dos cavacos esterilizados. A esterilização aparentemente elevou o rendimento, provavelmente, pela eliminação dos extrativos. Os cavacos esterilizados, inoculados e incubados a 30°C apresentaram o mesmo rendimento dos cavacos esterilizados. Houve aumento no rendimento com os cavacos incubados a 40°C (52%) e a 50°C (53,1%), da ordem de 2,4% e 4,5%, respectivamente, em relação aos cavacos não tratados.

A atividade da população sobre os extrativos deve ser a explicação para o aumento do rendimento em celulose, pois Prado et al., (1991) não verificaram este tipo de resultado, trabalhando somente com *T aurantiacus*. A ação fúngica termófila deve ter ocorrido de modo simultâneo sobre os cavacos, o que facilitou o cozimento da madeira.

A diminuição dos teores de extrativos da madeira pode ter implicações importantes. Se este processo fosse estendido por um período de 4 a 5 meses, provavelmente, haveria uma maior produção de celulose com menor consumo de álcalis. Assim, a atividade de fungos termófilos em pilhas de cavacos pode propiciar economicidade, para o setor papelero, e não somente problemas, da forma como foi apontado por Sharma (1989).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Champion Papel e Celulose S.A. pelos materiais oferecidos e à FAPESP pela bolsa de Iniciação Científica, cedida ao primeiro autor, para o desenvolvimento dos trabalhos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUER, C.G.; FERRARI, M.P.; TOMAZELLO FILHO, M.; BARRICHELO, L.E.G. Estrutura anatômica e composição química de cavacos de madeira de eucalipto inoculados com o fungo *Thermoascus aurantiacus*. **IPEF**, Piracicaba, n.37, p.45-50, 1987.
- AUER, C.G.; KRUGNER, T.L.; BARRICHELO, L.E.G. Fungos termófilos em pilhas de cavacos de *Eucalyptus* spp. com auto-aquecimento. **IPEF**, Piracicaba, n.38, p.28-32, 1988.
- BJORKMAN, E.; HAEGER, C.E. Outdoor storage of chips and damage by microorganisms. **Tappi**, Atlanta, v.46, n.12, p.129-133, 1963.
- COONEY, D.G. & EMERSON, R. **Thermophilic fungi**; an account of their biology, activities and thermotolerant fungi. San Francisco: Freeman and Company, 1964. 188p.
- ESLYN, W.E. Evaluation of chemicals for controlling biodeterioration of stored wood chips. **Forest Products Journal**, Madison, n.23, p.21 -25, 1973.
- GUILMO, S.M.P.; AUER, C.G.; BARRICHELO, L.E.G. Efeito de fungos termófilos sobre madeira de *Eucalyptus saligna*. II. *Aspergillus* sp., *Dactylomyces thermophilus* Sopp., *Penicillium bacillisporum* Swift, *Rhizomucor* sp. e *Sporotrichum* sp. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.26/27, p.29-34, 1993.
- ROSENBERG, S.L. Temperature and pH optima for 21 thermophilic and thermotolerant fungi. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.21, p.1535-1540, 1975.
- PRADO, S.M.; AUER, C.G.; BARRICHELO, L.E.G. Efeito de fungos termófilos sobre madeira de *Eucalyptus saligna*. 1. *Thermoascus aurantiacus*. In: CONGRESSO ANUAL DA ABCP, 24, São Paulo, 1991. **Anais**. São Paulo: Associação Brasileira de Celulose e Papel, 1991. p.1-8.
- SHARMA, H.S.S. Economic importance of thermophilic fungi. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.31, n.1, p.1-10, 1989.
- TANSEY, M.R. Isolation of thermophilic fungi from self-heated, industrial wood chip piles. **Mycologia**, New York, v.63, p.537-547, 1971.