

CARACTERÍSTICA DA MADEIRA DE EUCALYPTUS Spp,
INOCULADA COM THERMOASCUS AURANTIACUS E
SPOROTRICHUM sp

Sônia Maria Prado
ESALQ/USP - Depto de Genética - Piracicaba, SP - Brasil

Eduardo L. Vianna Doria
Aracruz Celulose S.A. - Aracruz, ES - Brasil

Luiz Ernesto George Barrichelo
ESALQ/USP - Depto Ciências Florestais - Piracicaba, SP Brasil

RESUMO:

Determinou-se os teores de açúcares, extrativos solúveis em diclorometano, álcool tolueno e feitos cortes anatômicos em cavacos de madeira. Com a celulose obtida, determinou-se os rendimentos, número kappa e viscosidade. Houve redução nos extrativos, elevação no rendimento depurado e nenhuma alteração no número kappa, viscosidade e açúcares, com o decorrer do tempo. Cortes anatômicos mostraram diferenças, a partir do 10º dia de incubação. Os resultados sugerem a ação dos fungos sobre açúcares da hemicelulose e lipídeos da madeira.

INTRODUÇÃO

O eucalipto é a principal matéria-prima de fibras curtas para a produção de celulose e chapas no Brasil e plantado em larga escala, principalmente nos Estado de São Paulo e Minas Gerais.

O ciclo de exploração das florestas de eucalipto tem variação de 5 a 8 anos, e nesta faixa de idade as propriedades da madeira não estão bem definidas; a madeira apresenta uma pequena camada de cerne e alta porcentagem de alburno. Este último não possui compostos fenólicos como o cerne, o que resulta numa menor resistência da madeira ao ataque de microorganismos (CONLING et alii, 1974).

No estágio atual de utilização da madeira como matéria-prima já é prática comum nas empresas de celulose, o armazenamento em forma de cavacos. Esse tipo de armazenamento possui vantagens, tais como, facilidade de transporte e manuseio, possibilidade de maior uniformização do material um menor custo como decorrência da fácil movimentação em relação as toras dentro das fábricas.

A mudança do tipo de estocagem, conjuntamente ao uso de madeira com alto teor de alburno, pode resultar na possibilidade desta madeira ser degradada por microorganismos, mais rapidamente do que na forma de toras, implicando assim na diminuição do rendimento da indústria, perda de qualidade da celulose para a fabricação de papel e um maior custo por tonelada de celulose e/ou papel (CARVALHO et alii. 1969).

Os fungos termófilos tem sido isolados com grande frequência de pilhas e cavacos de madeira armazenada ao ar livre por períodos prolongados de tempo e indicados como os responsáveis da ignição espontânea do material. Embora não existam evidências sobre a capacidade destes fungos degradarem lignina, é sabido que utilizam celulose, hemicelulose e extrativos da madeira como fonte de energia (OFOSU - ASIÉDU e SMITH 1973. ROSENBERG, 1978).

Observações feitas por AUER (1986), em pilhas de cavacos de *Eucalyptus* spp, no pátio da Champion Papel e Celulose Ltda, indicaram a presença de microorganismos termófilos identificados como: *Aspergillus* sp, *Dactylooyces thermophilus*, *Penicillium* sp, *Rhizomucar* sp, *Sporotrichum* sp e *Thermoascus aurantiacus*.

Através de estudos mais recentes feitos com a inoculação dos fungos *Thermoascus aurantiacus* e *Sporotrichum* sp, em cavacos de madeira de *Eucalyptus saligna*, foi observada uma tendência de consumo de extrativos da madeira que confirmaram as observações nas quais as madeiras de eucalipto armazenadas apresentaram, nos processos de cozimentos industriais, um maior rendimento em celulose e menor consumo de produtos químicos. Desse modo seria indicado um maior aprofundamento sobre o assunto, inclusive realizando-se cozimentos dos cavacos para verificação dos consumos de álcalis e rendimento de celulose produzida com a madeira após o ataque dos fungos.

Este trabalho teve, por objetivo a observação dos efeitos das ações dos fungos *Thermoascus aurantiacus* e *Sporotrichum* sp sobre as características químicas e anatômicas de cavacos de *Eucalyptus* spp nos períodos de 10, 20, 30 e 60 dias de incubação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para este experimento utilizou-se um lote de cavacos de *Eucalyptus* spp. O material foi hidratado de modo a obter-se uma umidade final ao redor de 40%.

Após a hidratação, cerca de 2 kg de cavacos foram colocados em copo de 4000 ml com tampa protegida por algodão de modo a permitir trocas gasosas e evitar contaminações com esporos de outros microorganismos.

O delineamento experimental constou de um lote de cavacos tetemunha com cavacos de madeira sem autoclavagem e de dois tratamentos, a saber: (1) Autoclavagem dos cavacos a 120°C, 1 atm de pressão, por 60 minutos, e (2) mesmo proce-

dimento do tratamento (1) e posterior inoculação com suspensão de esporos de dois fungos termófilos (*Thermoascus aurantiacus* e *Sporotrichum* sp). A suspensão foi obtida de colônia puras do fungo, cultivadas em meio de BDA, incubadas a 42°C. Todos os tratamentos tiveram 3 frascos como repetição. Os frascos foram incubados a 42°C em estufa e após os períodos de 10, 20, 30 e 60 dias de incubação, foram feitas análises químicas e o reisolamento do fungo em BDA, utilizando-se cavacos para verificar a eficiência do método de incubação. As análises químicas foram efetuadas utilizando-se a metodologia de uso corrente no Laboratório de Análises Químicas do Centro de Tecnologia da ARACRUZ CELULOSE S.A., a saber:

- a) Teor de extrativos solúveis em álcool-tolueno,
- b) Teor de extrativos solúveis em diclorometano, e
- c) Teor de açúcares

Nesse período foram realizadas as análises da estrutura anatômica, da madeira dos cavacos inoculados e não inoculados, através do exame de cortes histológicos. Os cavacos foram mantidos sob vácuo por 48 horas em solução de EDTA a 4% e obtidas seções finas nos planos transversal, tangencial e radial, com 18 µm de espessura. As seções finas foram coradas através do método, a saber: lavagem com água destilada; solução mordente (± 2 minutos); lavagem com água destilada; três gotas de hematoxilina; lavagem com água destilada; lavagem com álcool a 15% coloração com safranina, lavagem com álcool e 35%, 50, 70, 95% (1 vez) e 99% (2 vezes); lavagem com xilol. Das seções coradas foram feitas as montagens das lâminas permanentes, usando-se a cola Histoclad.

Para a obtenção da celulose foi empregado o processo sulfato. O cozimento foi executado em digestor de laboratório de aço inoxidável, aquecimento direto, rotatório e com 2 litros de capacidade.

As condições empregadas nos cozimentos foram as seguintes:

- Tempos de: impregnação - 20 minutos
 cozimento - 90 minutos
 aquecimento - 60 minutos
- Temperatura de cozimento: 170°C
- Relação licor-madeira: 4:1
- Sulfidez: 30 ± 1%
- Carga alcalina, % AE: 14,5%. As condições experimentais impossibilitaram a adução do cozimento com número kappa constante, o que nos fez trabalhar com carga constante.

Para a determinação do volume final de água a adicionar, levou-se em conta a umidade dos cavacos.

A celulose produzida foi peneirada em malha 120 e após uma lavagem, foi passada em um desfibrador de discos para individualização das fibras. A polpa foi lavada com água e retirou-se o excesso de água por compressão manual.

Com as amostras da polpa foram determinadas:

- a) Número kappa
- b) Rendimento bruto

- c) Rendimento depurado
- d) Rejeitos
- e) Viscosidade

RESULTADOS OBTIDOS

Análise de Extrativos

Os resultados encontrados para as análises de extrativos são mostrados nas Tabelas de 1 a 3.

Tabela 1 - Médias em percentagem de extrativos solúveis em etanol-tolueno (1:2) de cavacos incubados 10, 20, 30 e 60 dias com os fungos *T. aurantiacus* e *Sporotrichum* sp.

Tratamento	% de Extrativo
Testemunha	2,30
Testemunha autoclavada	2,27
TH 10 dias de incubação	1,57
TH 20 dias	1,56
TH 30 dias	1,51
TH 60 dias	1,46
SP 10 dias	1,81
SP 20 dias	1,66
SP 30 dias	1,65
SP 60 dias	1,50

Cada valor é média de 3 repetições.

Tabela 2 - Médias em percentagem de extrativos solúveis em diclorometano de cavacos incubados 10, 20 e 60 dias com os fungos *T. aurantiacus* e *Sporotrichum* sp

Tratamento	% de Extrativo
Testemunha	0,27
Testemunha autoclavada	0,26
TH 10 dias de incubação	0,21
TH 20 dias	0,20
TH 30 dias	0,20
TH 60 dias	0,18
SP 10 dias	0,21
SP 20 dias	0,20
SP 30 dias	0,19
SP 60 dias	0,17

Cada valor é média de 3 repetições.

Tabela 3 - Médias em porcentagem dos teores de xilose e glicose de cavacos de cavacos incubados 10, 20, 30 e 60 dias com os fungos *T. aurantiacus* e *Sporotrichum sp.*

Tratamento	Xilose %	Glicose %
Testemunha	11,61	42,24
Testemunha autoclavada	12,16	43,17
TH 10 dias	11,48	43,29
TH 20 dias	12,19	44,05
TH 30 dias	11,55	41,30
TH 60 dias	12,43	42,48
SP 10 dias	11,52	43,77
SP 20 dias	11,27	43,24
SP 30 dias	12,71	42,43
SP 60 dias	12,10	43,25

Cada valor é média de 3 repetições.

Cozimento de Cavacos Inoculados e Não Inoculados

Os resultados obtidos com estes ensaios são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Rendimento depurado (RD), teor de rejeitos (RE), em porcentagem, número kappa (NK) e viscosidade (V) em dm^2/kg .

Tratamento dos Cavacos	Parâmetro Analisado	Média dos Valores em %	NK	V
Testemunha	RD	52,3	24,8	1.165
	RE	0,80		
Inoculado 30 dias TH	RD	51,6	22,7	1.216
	RE	0,49		
Inoculado 30 dias SP	RD	50,3	23,6	1.149
	RE	0,47		
Inoculado 60 dias TH	RD	55,1	24,5	1.091
	RE	0,57		
Inoculado 60 dias SP	RD	53,3	24,5	1.112
	RE	0,67		

Cada Valor é Média de 3 repetições.

Extruturas Anatômicas

Análises microscópicas das alterações na estrutura anatômica da madeira - Aumento 210 X.

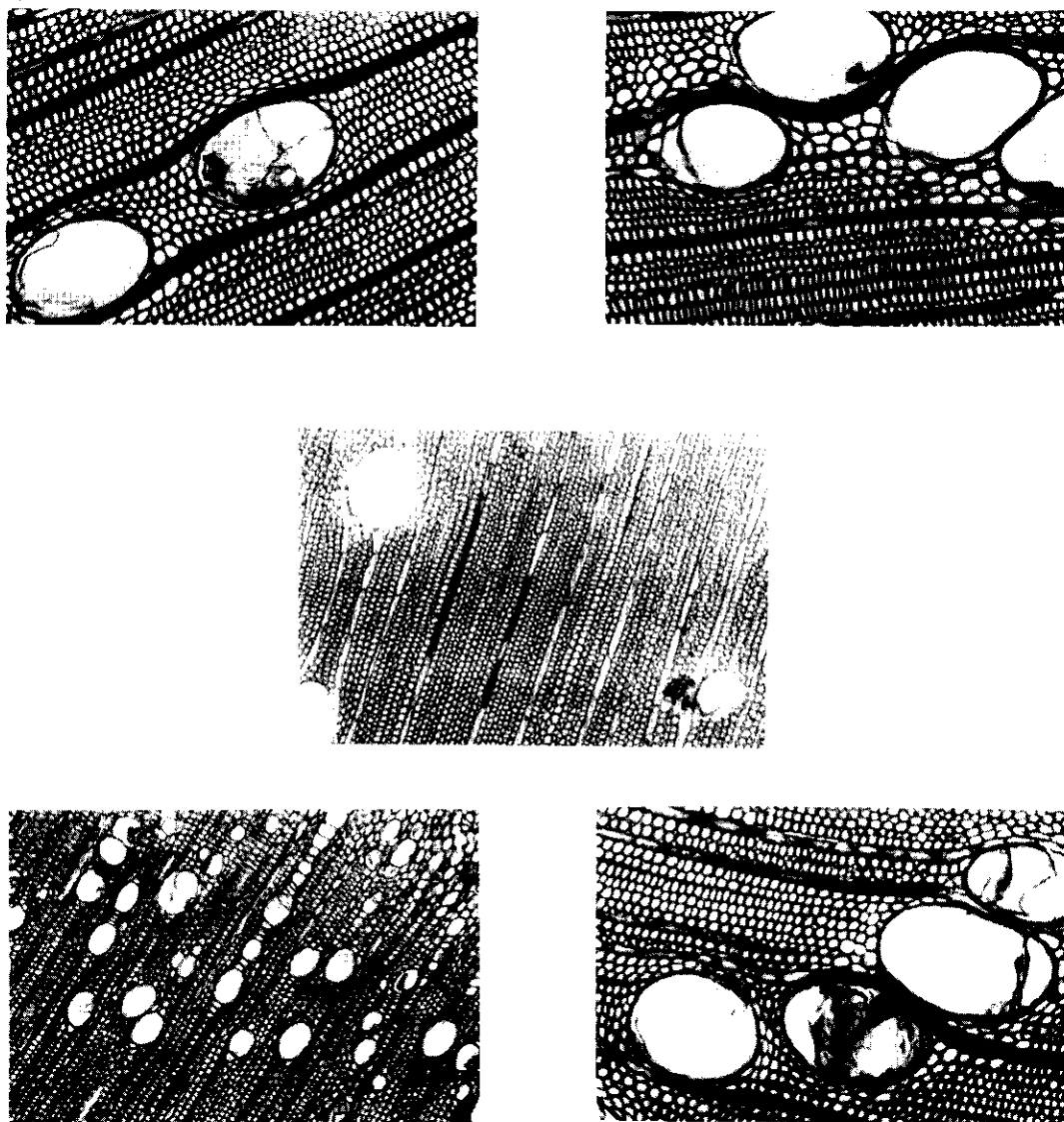


Figura 1 - Seção transversal da madeira de cavacos de eucalipto testemunha (1A) e inoculados com esporos de *T. aurantiacus* com 10(1B), 20(1C), 30(1D) e 60(1E) dias de incubação, mostrando o parênquima radial com pontuações escuras e crescimento micelial do fungo.

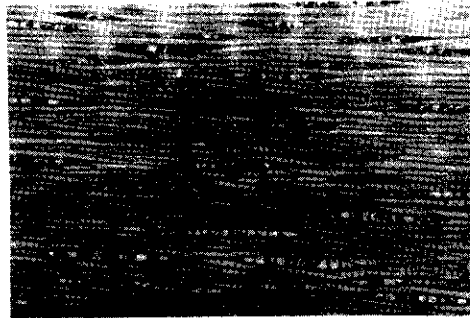
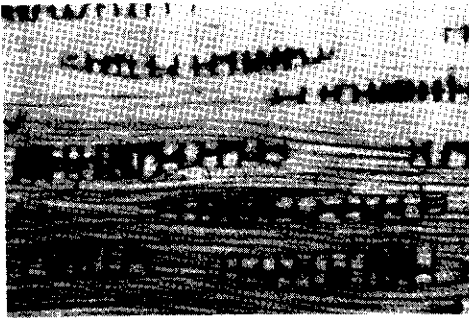


Figura 2 - Seção tangencial da madeira de cavacos testemunha (2A) e inoculados com esporos de *T.aurantiacus* com 10(2B), 20(2C), 30(2D) e 60(2E) dias de incubação, mostrando o parênquima radial do fungo e pontuações escuras e crescimento micelial do fungo.



Figura 3 - Corte radial da madeira de eucalipto testemunha (3A) e inoculados com esporos de *T.aurantiacus* com 10(3B), 20(3C) e 60(3E) dias de incubação, mostrando o parênquima radial com pontuações escuras e crescimento micelial do fungo

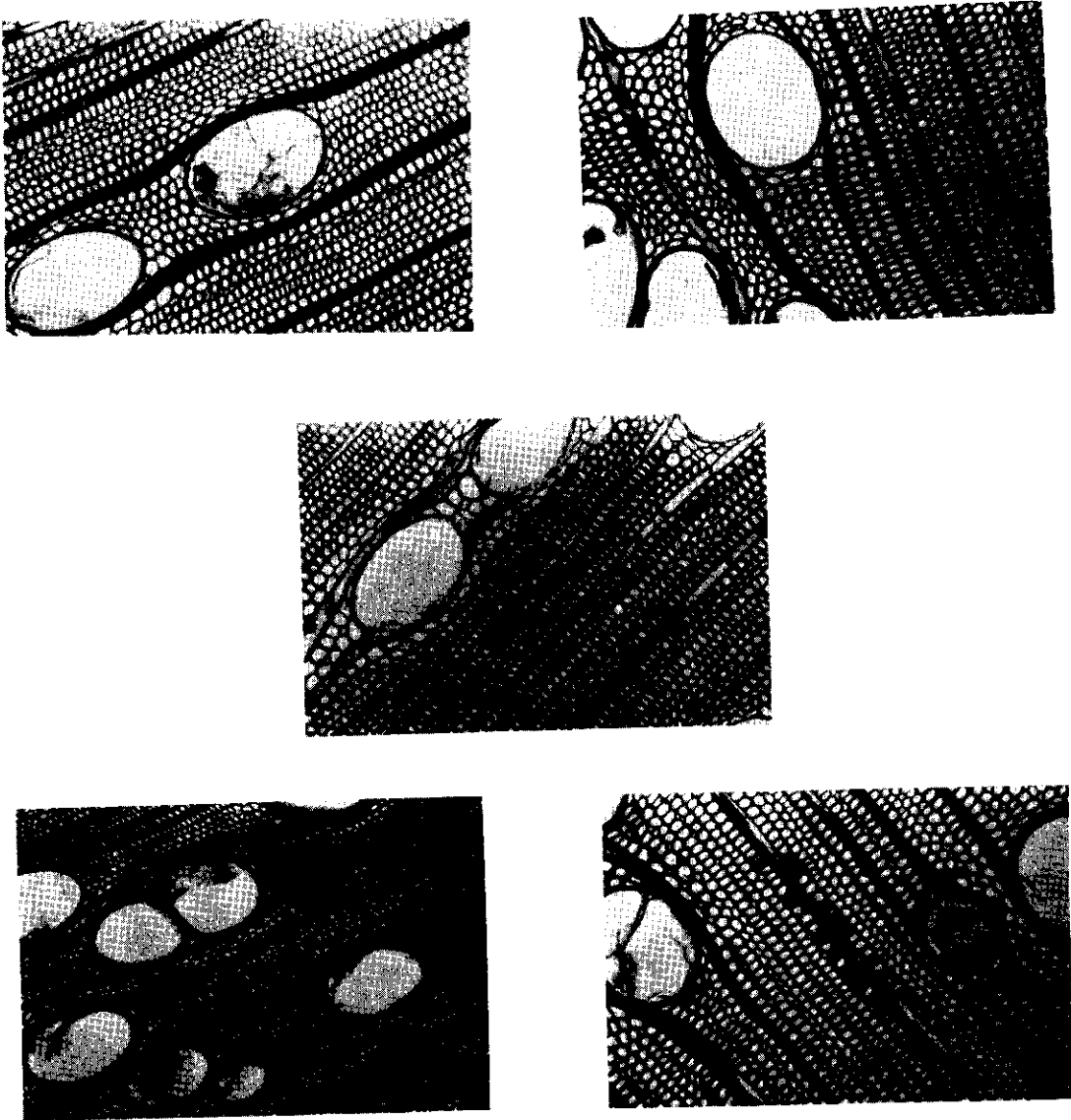


Figura 4 - Seção transversal da madeira de cavacos de eucalipto testemunha (4A) e inoculados com esporos de *Sporotrichum* sp com 10(4B), 20(4C), 30(4D) e 60(4E) dias de incubação, mostrando o parênquima radial com pontuações escuras e crescimento micelial do fungo.

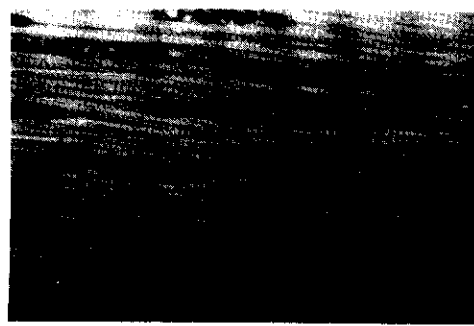
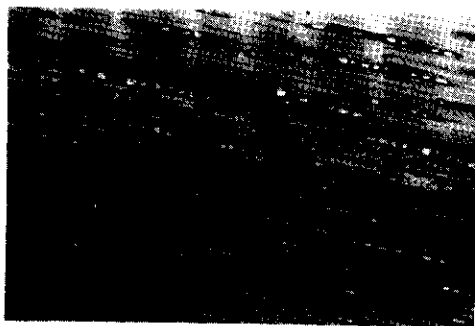
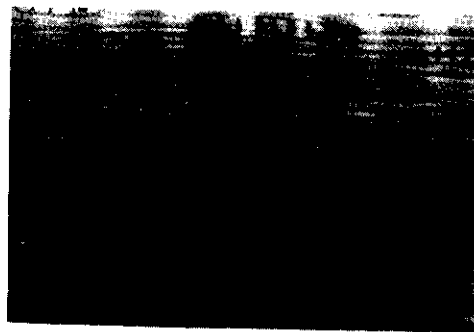
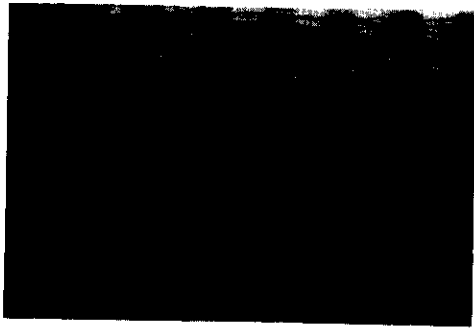


Figura 5 - Seção tangencial da madeira de cavacos testemunha (5A) e inoculados com esporos de *Sporotrichum* sp com 10(5B), 20(5C), 30(5D) e 60(5E) dias de incubação, mostrando o parênquima radial com pontuações escuras e crescimento micelial do fungo.

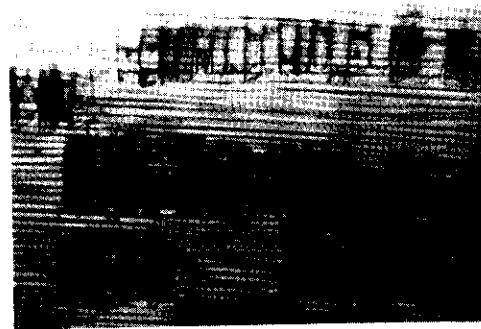
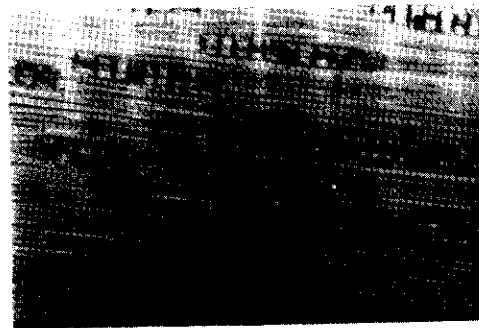
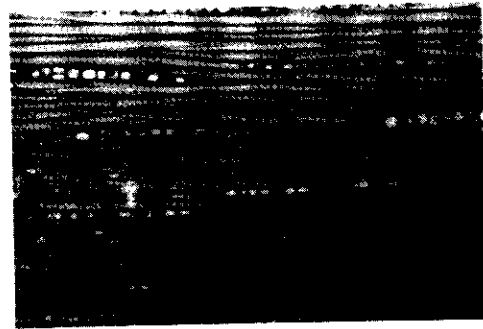
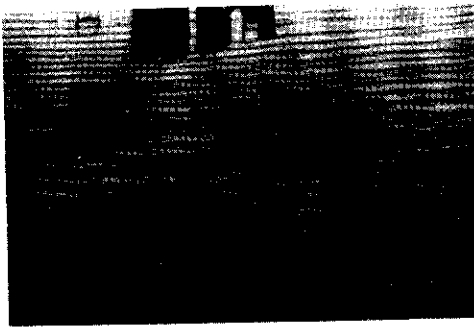


Figura 6 - Corte radial da madeira de eucalipto testemunha (6A) e inoculados com esporos de *Sporotrichum* sp com 10(6B), 20(6C), 30(6D) e 60(6E) dias de incubação, mostrando o parênquima radial com pontuações escuras e crescimento micelial do fungo.

DISCUSSÃO

Nas extrações com diclorometano e álcool tolueno (Tabela 1 e 2) a fração dos extrativos solúveis nestes solventes inclui resinas, óleos, ceras e graxas. Os resultados mostram uma queda nos teores desses extrativos com o decorrer do tempo. Os fungos *Thermoascus aurantiacus* e *Sporotrichum sp* devem usar algumas destas substâncias orgânicas dentro de seu metabolismo.

Na análise de açúcares (Tabela 3), observou-se que não houve grandes alterações nas porcentagens de glicose e xilose.

Os cortes anômicos da madeira de cavacos inoculados com esporos dos fungos, quando comparados com os não inoculados, mostraram diferenças a partir do 10^o dia de incubação, nos três tipos de corte (transversal, tangencial e radial). Essas alterações ocorrem durante o processo de colonização, quando após a germinação dos esporos do fungo inicia-se a penetração da hifa, através do parênquima radial ou raios da madeira. O crescimento da hifa ocorre às expensas das reservas acumuladas nas células do parênquima, atingindo destas forma, o interior da madeira e destruindo a parede dessas células. As enzimas são produzidas nas extremidades das hifas que se propagam pelas paredes das células, secretando enzimas extracelulares que se difundem na superfície do material. Essas enzimas hidrolisam as longas cadeias de polímeros em produtos de cadeias menores. Esses produtos são absorvidos na parede celular dos fungos e metabolizados por enzimas intracelulares, produzindo energia e substâncias necessárias ao seu contínuo desenvolvimento e novas frutificações.

A nível de cozimento, observa-se que mesmo com o número kappa situado em 24 ± 1 para todos os períodos de incubação, o rendimento depurado apresenta ganhos de até 3% em relação ao testemunho (Tabela 4).

Do conjunto de resultados obtidos ressaltam-se algumas tendências dos comportamentos do fungos estudados. Quanto à degradabilidade de celulose e lignina, nota-se que não houve grandes alterações no número kappa e viscosidade, para os dois fungos em comparação com as testemunhas. Isto veio confirmar que os fungos *T. aurantiacus* e *Sporotrichum sp* presentes nas amostragens não apresentam capacidade celulolítica e lignolítica nas condições observadas, utilizando-se de outras fontes de carbono de fácil hidrolização, como foi discutido por (FERGUS, 1969 e FLANNIGAN & SELLARS, 1972).

Com relação aos efeitos dos fungos sobre o rendimento depurado da celulose produzida, observou-se uma tendência dos mesmos em aumentarem o rendimento. Novos estudos devem ser desenvolvidos para confirmar estas tendências, assim como fundamentar os processos envolvidos.

LITERATURA CONSULTADA

1. AUER, C. G. Levantamento de fungos termófilos associados a pilhas de cavacos de *Eucalyptus* spp. Piracicaba, 1986, 99 p. (Dissertação de Mestrado).
2. CARVALHO, P. C. T. et alii. Estudos sobre o armazenamento de cavacos *Eucalyptus* spp. ao ar livre. In: Congresso Florestal Argentino, 1. Buenos Aires, 6-11 out., 1969, Buenos Aires. Serviço National Florestal. p. 649-68, 1969.
3. COWLING, E. B., HARLEY, W. L. & WEINER, J. Changes in value and utility of pulpwood during harvesting, transport and storage. TAPPI. Atlanta, 57:120-23, 1974.
4. FERGUS, C. L. The Cellulolytic activity of thermophilic fungi and actinomycetes. Mycologia. New York, 61; 120-29, 1969.
5. FLANNIGAN, B. & SELLARS, P. N. Activities of thermophilous fungi from barley Kernela against arabinoxyian and carboxymetil cellulose. Transactions of the Brifish nycological Society, London, 58: 338-41, 1972.
6. JAIN, N. K. et alii cellulose activity, degradation of cellulose and lignin, and humus formation by thermophilic fungi. Transactions of the British Nycological Society. London, 73: 85-9, 1979.
7. OFOSU-ASIEDU, A. & SMITH R. S. Degradation of three saflwood by thermophilic and thermotolerant fungi Nycologia, New York, 65: 240-244, 1973.
8. ROSENBERG, S.L. Cellulose and lignocellulose degradation by thermophilic and thermotolevant fungi. Nycologia. New York, 70 1-13, 1978.
9. SMITH, R. S. & OFOSU-ASIEDU, A. Distribution of thermophilic and thermotolerant fungi in a spruce-pine chip pile. Canadian Journal of Forest Research. Ottawa, 2 16-2, 1972.
10. TAN, L.U.L et alii. Purification and characterization of a thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus*. Can. J. microbial. Ottawa, 33: 689-692, 1987.