

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E
RECURSOS NATURAIS DA AMAZÔNIA
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS**

**MICROORGANISMOS DE SOLOS AMAZÔNICOS COM POTENCIAL NA
BIOCONVERSÃO DE MATERIAL LIGNINOCELULÓSICO EM
SÓLIDOS SOLÚVEIS**

CARLA MARIA DE SOUZA BRAGA

Manaus-Amazonas

2009

CARLA MARIA DE SOUZA BRAGA

**MICROORGANISMOS DE SOLOS AMAZÔNICOS COM POTENCIAL NA
BIOCONVERSÃO DE MATERIAL LIGNINOCELULÓSICO EM
SÓLIDOS SOLÚVEIS**

**Dissertação apresentada para a
obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia e Recursos Naturais da
Amazônia na Universidade do Estado
do Amazonas.**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio de Oliveira

Manaus-Amazonas

2009

Agradamentos

A Deus, pelas oportunidades ao longo da vida, pela saúde, fé, esperança e persistência que me dá para superar os obstáculos.

Aos meus pais, que me proporcionaram uma educação de qualidade para eu concretizar esse projeto de vida.

Aos meus filhos, Thyago e Renata, que souberam compreender a minha ausência, devido às horas de dedicação ao estudo e a pesquisa no laboratório.

Ao amigo e companheiro Pedro Elias pelo incentivo e apoio.

À Universidade do Estado do Amazonas e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais, pela oportunidade, de concessão do conhecimento e aprendizado.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia pelo apoio através da infra-estrutura para a realização desse trabalho.

Ao Prof. Luiz Antonio Oliveira, o meu carinho, respeito, admiração e eterna gratidão, pelo incentivo, ensinamentos e dedicação ao longo do desenvolvimento de nossa pesquisa.

Aos meus colegas de turma, em especial a amiga Solange Pires de Araújo, pelo apoio e palavras amigas nos momentos difíceis e a colega Rosilane Graça pela sua amizade.

A todos os professores do curso de Biotecnologia e aqueles que fizeram direta e indiretamente parte dessa conquista.

Muito obrigada!!!

RESUMO

O bagaço da cana, como outros resíduos vegetais, como as serragens de espécies madeiras são pouco utilizados e podem gerar produtos biotecnológicos de interesse econômico, caso sejam melhor aproveitados. A Amazônia é uma região onde o refugo vegetal é elevado e muito pouco usado, sendo muitas vezes, jogado no meio ambiente. Considerando a utilização de matéria orgânica de origem vegetal e microrganismos presentes no solo com potencial em metabolizar celulose, hemicelulose e lignina, a presente pesquisa visou selecionar microrganismos do solo capazes de converter material vegetal em sólidos solúveis, como um pré-produto para a produção de produtos biotecnológicos, como álcool, açúcares entre outros. Para isso, foram realizados experimentos de laboratório usando solos regionais e, bactérias e fungos isolados desses solos para avaliar seus potenciais de converter bagaço de cana (*Saccharum* sp L.) moído e serragem de assacu (*Hura crepitans* L.) em sólidos solúveis. Testou-se também, o efeito da adição de doses elevadas de nitrogênio no meio e de temperatura elevada no acúmulo desses sólidos. Os resultados indicaram que houve diferenças entre as microbiotas dos solos em produzirem sólidos solúveis usando esses dois materiais vegetais como fontes de carbono. As microbiotas dos solos de urucu proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis que as dos solos dos campus do INPA. Houve diferenças significativas entre os fungos e entre as bactérias isolados desses solos quanto ao acúmulo de sólidos solúveis. Aumentando a quantidade de nitrogênio no meio resultou em maiores acúmulos de sólidos solúveis. Houve maiores acúmulos de sólidos solúveis à temperatura de incubação de 39° C quando comparado com 26° C. Os fungos que proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis foram os identificados como INPA 4FC, INPA 5FA, INPA 7FC e INPA 8FA. As bactérias que proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis foram as identificadas como INPA 1BA, INPA 5BA e INPA 6BA.

Palavras chave: Metabolismo microbiano, Biotecnologia, Assacu, Cana-de-açúcar, bioconversão vegetal.

ABSTRACT

The cane bagasse, as other vegetable residues, as the sawdust of woody species, are not very used and they can generate biotechnical products of economic interest, in case they are better used. Amazonia is an area where the vegetable refuse is high and very a little used, being a lot of times, thrown away in the environment. Considering the use of organic matter of vegetable origin and present microorganisms in the soil with potential to metabolize cellulose, hemicellulose and lignin, the present research sought to select microorganisms of the soil able to convert vegetable material in soluble solids, as a pré-product for the production of biotechnical products, as alcohol, sugar among others. For that, laboratory experiments were accomplished using regional soils and, bacteria and fungi isolated of those soils to evaluate its potentials in converting cane bagasse (*Saccharum* sp L.) and assacu sawdust (*Hura crepitans* L.) in soluble solids. It was also tested, the effect of the addition of high doses of nitrogen in the medium and of high temperature in the accumulation of those solids. The results indicated that there were differences among the microbiotas of the soils to produce soluble solids using those two vegetables materials as carbon sources. The microbiotas of the urucu soils provided higher accumulations of soluble solids that those of the INPAs soils. There were significant differences among the fungi and among the bacteria isolated of those soils in relation to the accumulation of soluble solids. Increasing the amount of nitrogen in the medium resulted in higher accumulations of soluble solids. There were higher accumulations of soluble solids at the temperature of incubation of 39° C when compared with 26° C. The fungi that provided higher accumulations of soluble solids were those identified as INPA 4FC, INPA 5FA, INPA 7FC and INPA 8FA. The bacteria that provided higher accumulations of soluble solids were the identified as INPA 1BA, INPA 5BA and INPA 6BA.

Words key: Microbial metabolism, Biotechnology, Assacu, Sugar-cane, vegetable bioconversion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Esquema tridimensional de uma parede celular mostrando a parede primária e as camadas que compõem a parede secundária. Fonte: D’Almeida, (1982)	18
Figura 2: Representação esquemática das fibras de celulose e sua disposição espacial na madeira. Fonte: D’Almeida (1982)	21
Figura 3: Diagrama de fluxo da produção de açúcar e bioetanol de cana.	27
Figura 4: Estrutura típica da biomassa da cana-de-açúcar	30
Figura 5: <i>Hura crepitans</i> L (Assacu)	32
Figura 6: A: Amostras de solo da Província Petrolífera de Urucu – AM B: Amostra de solo do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)	34
Figura 7: Material Vegetal: A: Bagaço de cana-de-açúcar (<i>Saccharum L.</i>). B: Pó de serragem de Assacu (<i>Hura crepitans</i> L.).....	35
Figura 8: Medição do grau brix nos experimentos	37
Figura 9: Médias das produções de sólidos solúveis pelas microbiotas de solos usando serragem de assacu como fonte de carbono.....	42
Figura 10: Médias das produções de sólidos solúveis pelas microbiotas de solos usando bagaço de cana moído como fonte de carbono.....	44
Figura 11: Médias das produções de sólidos solúveis pelas microbiotas de solos usando assacu ou bagaço de cana como fonte de carbono e solução de nutrientes de Atlas (1995)	46
Figura 12: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço	

de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	49
Figura 13: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes modificada de Atlas (1995).	52
Figura 14: Produção de sólidos solúveis por fungos usando assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	54
Figura 15: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	55
Figura 16: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando serragem de assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.	57
Figura 17: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	59
Figura 18: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio. Temperaturas de laboratório a 26°C e de estufa a 39°C.....	61
Figura 19: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio. Temperaturas de laboratório a 26°C e de estufa a 39°C.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Amostras de solos	33
Tabela 2: Características químicas dos solos usados nos experimentos.....	34
Tabela 3 - Experimento das amostras de solo com bagaço de cana-de-açúcar moído ou pó de serragem de assacu.....	37
Tabela 4: Microrganismos testados quanto à produção de sólidos solúveis usando bagaço de cana ou assacu como fonte de carbono.....	38
Tabela 5: Solução de Nutrientes modificada de Atlas (1995).....	39
Tabela 6: Produção de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos usando serragem de assacu como fonte de carbono.....	43
Tabela 7: Produção de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos usando bagaço de cana-de-açúcar moído como fonte de carbono.....	44
Tabela 8: Produção de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos usando solução nutritiva e material vegetal moído como fonte de carbono.....	47
Tabela 9: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando assacu como fonte de carbono.....	49
Tabela 10: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana como fonte de carbono.....	50
Tabela 11: Produção de sólidos solúveis por fungos usando assacu como fonte de carbono na presença de uma solução com nutrientes.....	51
Tabela 12: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes modificada de Atlas (1995).....	52
Tabela 13: Produção de sólidos solúveis por fungos usando serragem de assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	55
Tabela 14: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	56

Tabela 15: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando serragem de assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	58
Tabela 16: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.....	60
Tabela 17: Produção de sólidos solúveis por bactérias e fungos usando bagaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono. Temperatura de 26°C.....	62
Tabela 18: Produção de sólidos solúveis por bactérias e fungos usando bagaço de cana.....	63

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
1 OBJETIVOS	13
1.1 OBJETIVO GERAL	13
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS MICRORGANISMOS	14
2.2 COMPOSIÇÃO DA MADEIRA	17
2.2.1 Composição Química da madeira	18
2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA – SÓLIDOS SOLUVEIS	22
2.3.1 Os açúcares	22
2.3.2 Os Ácidos orgânicos	24
2.4 ETANOL E SUAS CARACTERÍSTICAS	25
2.4.1 Caracterização do material lignocelulósico	29
2.5 ASPECTOS GERAIS DA CANA-DE-AÇÚCAR (<i>Saccharum L.</i>) ...	29
2.6 ASPECTOS GERAIS DO ASSACU (<i>Hura Crepitans</i>)	31
3 MATERIAL E MÉTODO	33
3.1 COLETAS DE AMOSTRAS DO SOLO	33
3.2 MATERIAL VEGETAL	35
3.3 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES MICROBIANAS UTILIZANDO SOLOS E MATERIAL VEGETAL – LEITURA DO GRAU BRIX	35

3.4 AVALIAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS PELA DECOMPOSIÇÃO DO MATERIAL VEGETAL NOS SOLOS QUE SE DESTACARAM	36
3.5 MICRORGANISMOS CAPAZES DE CONSUMIR BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR MOÍDO E PÓ DE SERRAGEM DE ASSACU PARA A PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS	38
3.6 EFEITO DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SÓLUVEIS POR BACTÉRIAS E FUNGOS USANDO BAGAÇO DE CANA COMO FONTE DE CARBONO	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DA MICROBIOTA DE SOLOS AMAZÔNICOS	41
4.1.1 Avaliação das amostras de solos usando uma solução com nutrientes	45
4.2 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE SÓLIDOS SÓLUVEIS USANDO SERRAGEM DE ASSACÚ E DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	48
4.3 FUNGOS PRODUTORES DE SÓLIDOS SÓLUVEIS USANDO SERRAGEM DE ASSACÚ E DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	51
4.4 PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SÓLUVEIS POR FUNGOS USANDO ASSACÚ E CANA-DE-AÇÚCAR E UMA SOLUÇÃO DE NUTRIENTES ENRIQUECIDA COM NITROGÊNIO.....	53
4.5 PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SÓLUVEIS POR BACTÉRIAS USANDO ASSACÚ E CANA-DE-AÇÚCAR E UMA SOLUÇÃO DE NUTRIENTES ENRIQUECIDA COM NITROGÊNIO	57
4.6 AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DOS SÓLIDOS SÓLUVEIS POR BACTÉRIAS E FUNGOS USANDO BAGAÇO DE CANA COMO FONTE DE CARBONO	60
CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS	65

INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa desde a década de 70, um lugar de destaque tanto no setor produtivo quanto no aproveitamento agrícola dos resíduos da cana-de-açúcar. O bagaço da cana, como outros resíduos vegetais, como as serragens de espécies madeireiras são pouco utilizados e podem gerar produtos biotecnológicos de interesse econômico, caso sejam melhor aproveitados. A Amazônia é uma região onde o refugo vegetal é elevado e muito pouco usado, sendo muitas vezes, jogado no meio ambiente.

A maioria dos organismos componentes da microbiota dos solos depende da matéria orgânica, seja folha morta, palha, madeira ou raízes que incluem um sem número de substâncias, como amino ácidos, açúcares, enzimas, ou ácidos orgânicos, para desencadear o processo de decomposição.

Os microrganismos do solo podem ser classificados em grupos funcionais de acordo com suas atuações nos processos biológicos dos ecossistemas. A matéria orgânica do solo é resultante, principalmente, da deposição de resíduos de origem animal e vegetal, que sofrem ação decompositora de microrganismos, por meio da produção de enzimas (BUCHER et al., 2004; ARO et al., 2004) e juntamente com o auxílio da macro e mesofauna. O efeito da matéria orgânica sobre os microrganismos pode ser avaliado a partir da biomassa e da atividade microbiana, parâmetros que representam uma integração de efeitos sobre as condições biológicas do solo (BAYER; MIELNICZUK, 1999).

A composição da comunidade microbiana afeta a produção de enzimas, pelas quais conseguem se alimentar e reciclar nutrientes nos ambientes em que vivem. Dessa forma, mudanças na composição microbiana podem

influenciar na produção enzimática, uma vez que diferentes grupos microbianos necessitam de distintas e baixas concentrações de nutrientes para formar a biomassa, ou ter enzimas que diferem na afinidade por nutrientes (ALLISON, et al., 2007). Com base no seu potencial enzimático, os microrganismos tem um papel importante no balanço de nutrientes e equilíbrio dos ecossistemas terrestres, podendo exercer sua função no metabolismo dos resíduos vegetais. Essa possível utilização é reforçada pelo fato de que a biomassa microbiana desempenha um papel de destaque no cenário da sustentabilidade ambiental. Ela é considerada a parte viva da matéria orgânica do solo, contendo, em média de 2 a 5% de carbono orgânico e de 1 a 5% do nitrogênio total do solo, incluindo bactérias, actinomicetos, fungos, protozoários, algas e microfaunas (SMITH & PAUL, 1990).

Considerando a utilização de matéria orgânica de origem vegetal e microrganismos presentes no solo com potencial em metabolizar celulose, hemicelulose e lignina, a presente pesquisa visa selecionar microrganismos do solo capazes de converter material vegetal em sólidos solúveis, como um pré-produto para a produção de produtos biotecnológicos, como álcool, açúcares entre outros.

1 OBJETIVOS

1.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar microrganismos do solo capazes de converter material vegetal em sólidos solúveis como uma fonte inicial de carbono visando posterior produção de bioprodutos de valor econômico.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a capacidade da microbiota de alguns solos da Amazônia em converterem a madeira de assacu (*Hura crepitans*) e do bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) moídos em sólidos solúveis;
- b) Avaliar alguns microrganismos isolados desses solos em produzirem sólidos solúveis usando madeira de assacu e bagaço de cana-de-açúcar como fontes de carbono;
- c) Avaliar o efeito da temperatura sobre a produção de sólidos solúveis desses microrganismos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS MICRORGANISMOS

O conceito de diversidade é um importante critério utilizado em estudos ecológicos, principalmente no monitoramento das espécies do ambiente. A biodiversidade em um ecossistema é definida a partir de dois componentes: o número total de espécies presentes e a distribuição dos indivíduos entre as espécies (KENNEDY; SMITH, 1995). No caso da comunidade microbiana do solo, estudos sobre a diversidade são complexos, devido às dificuldades na identificação das espécies, bem como no isolamento de microrganismos do meio ambiente, que são encontrados freqüentemente ligados aos minerais e/ou à matéria orgânica (PAUL; CLARK, 1989).

A elevada diversidade microbiana no solo está diretamente relacionada à resistência do sistema aos estresses e condições extremas de temperatura (ALVAREZ et al., 1995), metais pesados e sais. Práticas culturais e desmatamentos de florestas e queimadas podem modificar a diversidade microbiana dos solos. Os microrganismos são reconhecidos por sua habilidade em promover transformações bioquímicas dos nutrientes e por sua importância em prover os elementos nutritivos de interesse às plantas, destacando-se os elementos N (nitrogênio), P (fósforo) e S (enxofre) (PAUL; CLARK, 1989). Podem-se inferir essas transformações pela quantificação do número de microrganismos ou por sua atividade (NANNIPIERI et al., 1978).

O solo é habitado por uma enorme variedade de microrganismos vegetais (microflora do solo) e animais (microfauna do solo) e ainda por organismos animais que vão de dimensões submicroscópicas a dimensões médias ou mesmo relativamente grandes (macrofauna). As atividades dos diversos grupos de organismos do solo estão interligados entre si e com as

condições do ambiente prevalentes a cada momento, verificando-se que a população microbiana se ajusta rapidamente às variações dessas condições ambientais e que são estas que fundamentalmente determinam o sentido em que a atividade dessas populações se desenvolve mais do que a espécie ou o número de microrganismos presentes (PAUL; CLARK, 1989).

Os microrganismos são responsáveis pelos processos de mineralização, representando eles próprios uma quantidade considerável de nutrientes potencialmente disponíveis para as plantas. Os nutrientes armazenados na biomassa microbiana podem atingir valores equivalentes a 100 kg de nitrogênio, 80 kg de fósforo, 70 kg de potássio e 11 kg de cálcio por ha. Como a biomassa dos microrganismos é reciclada cerca de 10 vezes mais rapidamente que a fração orgânica morta do solo, tem-se que a quantidade de nutrientes presentes nas células dos microrganismos é muito significativa perante a ciclagem de nutrientes em todo o ecossistema. O fluxo de N e P via biomassa microbiana, pode alcançar valores equivalentes a 40 e 10-20 kg ha⁻¹ ano⁻¹ respectivamente (HOLTZ & SÁ, 1995).

Em condições ideais, a microbiota do solo permite que os nutrientes sejam, gradualmente, liberados para a nutrição das plantas, sem perdas por lixiviação. A diminuição da microbiota do solo prejudica a fixação temporária dos nutrientes, incrementando suas perdas e resultando no empobrecimento do solo (HUNGRIA et al., 1997; CAMPOS et al., 2001).

Os microrganismos ocorrem na forma de células livres ou como agrupamentos de células que somente podem ser observados mediante o uso de um microscópio. As células microbianas são distintas das células animais e vegetais porque estas últimas são incapazes de sobreviver na natureza a não ser como partes de um organismo multicelular (ALVAREZ et al., 1995).

A ação microbiana do solo depende, entre outros fatores, da temperatura, do arejamento e das condições de umidade do meio ambiente, além das reações e do teor dos elementos nutritivos e da competição e antagonismo que se estabelecem entre os próprios grupos de microrganismos.

Dessa maneira, a intensidade de decomposição da matéria orgânica está diretamente relacionada à variação de temperatura. Entre 5° C e 30° C verifica-se que, uma vez estabilizada a baixa taxa de decomposição, as perdas em matéria orgânica são pequenas e uma tendência no sentido de se tornarem resíduos ricos em nitrogênio é notada. No entanto, em temperaturas elevadas (entre 45° C a 75° C), a intensidade de decomposição também diminui, assim como em condições reduzidas de arejamento, mesmo com umidade suficiente, fazendo com que a atividade microbiana seja pequena, modificando, principalmente, o sentido em que se processa a decomposição, especialmente em relação aos produtos finais dessa atividade (FELSK; AKKERMANS, 1998).

As bactérias são o grupo mais importante de organismos do solo, no qual, em condições favoráveis, atingem números extraordinariamente elevados. Há bactérias aeróbias obrigatórias, anaeróbias obrigatórias e facultativas. As primeiras obtêm o seu oxigênio do ar, e só prosperam, portanto em solos bem arejados. As segundas não necessitam de oxigênio, podendo ser prejudicadas por este, sendo sua atividade muito inferior à das primeiras. As chamadas facultativas constituem o grupo mais importante e atuam tanto num caso como no outro. As bactérias desempenham papel importante na decomposição de resíduos orgânico e na formação do húmus, incluindo organismos fixadores de nitrogênio na forma amoniacal e nítrico. Dentre as bactérias fixadoras de azoto (nitrogênio), uma delas (*Rhizobium*) vive em simbiose com leguminosas, fixando nitrogênio em nódulos na suas raízes. Outras não simbióticas obtêm o azoto do ar e a energia da decomposição de resíduos vegetais. É o caso das bactérias *Azotobacter* e da *Baijerinckia* (aeróbias), e do *Clostridium pasteurianum* (anaeróbio) (NANNIPIERI et al., 1978).

Outro grupo que chama atenção são os fungos, atingindo, no solo, uma massa total superior à das bactérias. São provavelmente todos heterotróficos e, em certas condições, podem ser os organismos do solo mais aptos para decompor a lignina. Algumas espécies são predadores de protozoários e de nematódeos e são menos exigentes em cálcio e mais tolerantes à acidez do

que as bactérias. Certos fungos vivem em simbiose com as raízes de plantas superiores e são conhecidas por micorrizas (FELSK; AKKERMANS, 1998).

2.2 COMPOSIÇÃO DA MADEIRA

A madeira é constituída por celulose, hemiceluloses, lignina e extrativos. A variação da composição e da organização destes componentes na ultra-estrutura da madeira justifica a diversidade das características morfológicas e mecânicas do material.

A madeira é a parte compacta ou fibrosa do tronco, dos ramos e das raízes de árvores, arbustos e outras plantas, sendo constituída de tecidos lignificados, que se desenvolveram sob a casca (SOARES, 1998). A madeira caracteriza-se por seu alto teor de material ligninocelulósico e por seu baixo teor de nitrogênio. Apesar desses fatores terem um efeito negativo tanto no crescimento como na atividade de degradação dos microrganismos, existe um grande número destes que são capazes de decompor a madeira sob condições externas favoráveis.

A madeira é um composto polimérico cujas propriedades técnicas e biológicas são principalmente determinadas pela composição química da parede celular. A forte tensão das fibras da madeira é determinada principalmente pela celulose e hemicelulose, enquanto que a lignina proporciona a adesão entre as fibras (ARO et al., 2004).

A parede celular de uma célula vegetal é formada por camadas individuais dispostas segundo um arranjo concêntrico. A estrutura típica de uma parede celular consiste de uma parede primária e uma parede secundária, apresentando uma camada de ligação entre as células chamada de lamela média. A lamela média é freqüentemente comparada com o cimento que liga tijolos de uma estrutura. É altamente lignificada, apresentando substâncias pécticas, principalmente na fase inicial de formação. Sua espessura, com exceção dos cantos da célula é de 0,2 – 1,0 μm (LEPAGE, 1986; CASTRO E SILVA, 1996).

A parede primária é uma camada fina, mais exterior, a qual é formada durante o desenvolvimento inicial da célula, com espessura estimada em $0,1 \mu\text{m}$ e constituída de 9% celulose incrustada numa matriz plástica-amorfa de hemicelulose, pectina e lignina, e cerca de 70% ou mais de água. Apresenta uma disposição simples, contrariamente à parede secundária, que possui três camadas mais ou menos distintas: camadas S_1 , S_2 e S_3 (Figura 01). A camada S_1 é relativamente fina, cerca de $0,1 - 0,3 \mu\text{m}$. A camada S_2 é a mais espessa, com cerca de $2-5 \mu\text{m}$ e a camada S_3 é a mais exterior, tem $0,1 \mu\text{m}$ de espessura. (PANSIN & DE ZEEUW, 1980; CASTRO E SILVA, 1996).

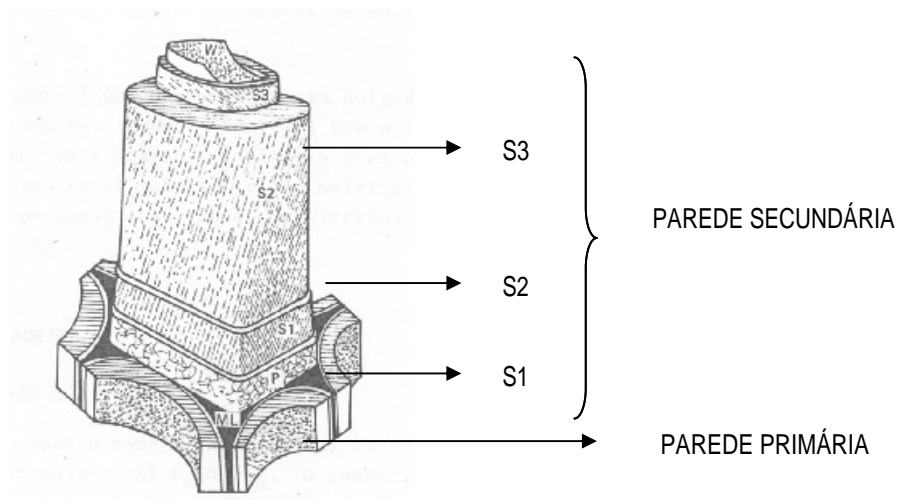


Figura 01: Esquema tridimensional de uma parede celular mostrando a parede primária e as camadas que compõem a parede secundária. Fonte: D’Almeida, (1982).

O arranjo das microfibrilas celulósicas que compõem a parede celular varia nas diferentes camadas. Na camada S_1 varia de $50 - 70^\circ$ em relação ao eixo longitudinal da célula; na camada S_2 o ângulo que as microfibrilas celulósicas fazem com o eixo da célula é menor, variando de $10 - 30^\circ$ e tem uma relação inversa com o comprimento da fibra; na camada S_3 varia de $50 - 90^\circ$ (PANSIN & DE ZEEUW, 1980; CASTRO E SILVA, 1996).

2.2.1 Composição Química da madeira

De uma maneira geral, as madeiras são constituídas de quatro componentes principais: celulose, hemicelulose, lignina e os assim chamados extrativos (D'ALMEIDA, 1982; FENGEL; WEGENER, 1989). A variação da composição e da organização destes componentes na ultra-estrutura da madeira justifica a diversidade das características morfológicas e mecânicas do material. Sendo um material orgânico e heterogêneo, a madeira é muito susceptível a danos causados por um conjunto variado de agente biológico, tais como bactérias, fungos, insetos e xilófagos marinhos. Os fungos da podridão são provavelmente uma das formas de degradação da madeira mais comuns que resulta na destruição acentuada do material e conseqüente perda de resistência. As alterações causadas dependem do tipo de madeira, dos microrganismos envolvidos e das condições ambientais associadas a um conjunto de mecanismos, enzimáticos e/ou não-enzimáticos, cujo entendimento requer ainda um esforço de investigação acentuada (BONONI, 1999).

Juntamente com a celulose e a hemicelulose, a lignina é um dos principais constituintes da madeira, sendo responsável pela sua resistência. É um biopolímero aromático amorfo, tridimensional, formado via polimerização oxidativa. Este ocorre na parede celular de plantas superiores em diferentes composições: madeiras duras, de 25 a 35%; madeiras macias, de 18 a 25% e gramíneas de 10 a 30% (GOLDSTEIN, 1976; BONONI, 1999; LARSON, 1994).

O papel da lignina nos tecidos vegetais é o de conferir força e resistência mecânica, porém com elasticidade. Outra função da lignina é a de proteção da madeira contra a degradação microbiológica, função esta desempenhada graças à sua natureza recalcitrante, ou seja, de difícil biodegradação (KIRK & FARRELL, 1987). Dessa maneira, a lignina desempenha um papel fundamental no controle do ciclo de carbono na biosfera, uma vez que controla ou condiciona a degradação de celulose e hemicelulose por microorganismos.

As funções biológicas da lignina são: (1) Fornecer suporte estrutural à parede secundária de plantas vasculares. A parede celular lignificada pode ser vista como um complexo, com microfibrilas de celulose e hemicelulose, e a lignina como uma “matriz plástica”, conferindo resistência ao material lignocelulósico; (2) Tornar a parede celular vegetal hidrofóbica, permitindo o desenvolvimento eficiente dos tecidos para transporte de água em plantas vasculares; (3) Conferir resistência contra ataques microbianos (ÖNNERUD et al., 2002).

Os principais agentes de degradação da lignina estão entre os fungos da decomposição branca, que são dotados de um sistema ligninolítico constituído de peroxidases (Lignina e Manganês-Peroxidase) e da lacase, essas enzimas atribuem aos fungos a capacidade de desestabilizar a estrutura da lignina (BONONI, 1999).

Durante o processo de degradação oxidativa da madeira microrganismos transformam o material orgânico componente da madeira em CO₂, tendo energia e húmus como produtos finais. Além dos fungos, bactérias e actinomicetos também produzem enzimas que atuam sobre a lignina, porém em menores proporções. Os fungos têm facilidade de acesso ao substrato, uma vez que as hifas do micélio penetram nos tecidos vegetais melhor do que bactérias e actinomicetos e dessa forma, têm acesso ao conteúdo celular indisponível para outros microrganismos do mesmo ambiente (WUBAH et al., 1993). Além de fundamental para o equilíbrio das cadeias tróficas, a degradação da lignina apresenta grande importância econômica, tornando disponíveis substâncias de interesse na indústria, pecuária e na agricultura (ÖNNERUD et al., 2002).

Na madeira, as moléculas de celulose são mantidas juntas, de tal maneira a formar microfibrilas, as quais por sua vez são organizadas em um arranjo paralelo, lado a lado, formando fibrilas, que se entrelaçam, formando então as fibras de celulose (FENGEL; WEGENER, 1989) (Figura 2).

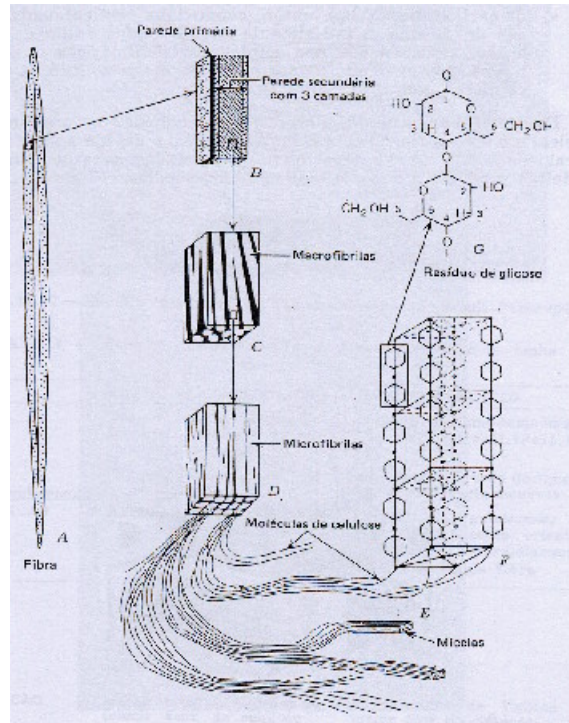


Figura 2: Representação esquemática das fibras de celulose e sua disposição espacial na madeira. Fonte: D'Almeida (1982).

Duas regiões morfológicamente diferentes podem ser bem caracterizadas, quando se analisa as fibras de celulose por difração de raios-X: uma região cristalina, altamente organizada e uma região amorfa, desordenada. As propriedades físicas das fibras de celulose, tais como resistência à tração mecânica, alongamento e capacidade de sovação, dependem do grau de organização (grau de cristalinidade) das mesmas (D'ALMEIDA, 1982 *apud* SOARES, 1998).

As células de suporte, correntemente designadas por fibras, que conferem resistência e rigidez ao material, apesar de distintas, são formadas por uma estrutura de natureza comum, e inclui componentes não-estruturais, nomeadamente compostos de baixo peso molecular, como os extrativos (material orgânico) e as cinzas (material inorgânico). Geralmente, apontam-se valores para a composição relativa destes componentes da ordem de 40 – 55% [celulose], 25 – 40% (hemicelulose) e 18 – 33% (lignina). A percentagem de

material não-estrutural é, em média de 3 – 4%. Os extrativos ou materiais acidentais são, freqüentemente, responsáveis por determinadas características como cor, cheiro, resistência natural ao apodrecimento, gosto e propriedades abrasivas da madeira (IPT, 1988).

2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA – SÓLIDOS SOLUVEIS

2.3.1 Os açúcares

Os açúcares (sacarose, glicose e frutose), sais orgânicos e sais inorgânicos são os componentes sólidos solúveis. Na maioria das vezes são encontrados em maior parte na cana-de-açúcar. A sacarose, representando 18% do caldo, é o principal componente do ponto de vista industrial, e sua concentração é normalmente avaliada em graus Brix. Os açúcares, também designados por hidratos de carbono, são compostos orgânicos que contêm carbono, hidrogênio e oxigênio, de fórmula geral $C_n (H_2O)_n$, onde n representa um número inteiro. Os açúcares são produzidos pelas plantas verdes a partir do dióxido de carbono e da água, à custa da energia solar captada pela clorofila. Enquanto que as plantas constroem os açúcares, os animais, pelo contrário, efetuam a sua degradação para obter energia (SIMÕES et al., 2001).

Os açúcares mais simples designam-se monossacarídeos. Entre estes destaca-se a glicose ou glucose, a frutose e a galactose. A glicose encontra-se nas uvas, nas ameixas, no mel e no néctar das flores e é um nutriente muito importante para a vida das plantas e dos animais, além de ser um dos açúcares mais importantes para a Química. Os monossacarídeos são poliálcoois que contêm um grupo aldeído ou um grupo cetônico. Os mais importantes são os que contêm 6 átomos de carbono. Os monossacarídeos podem existir agrupados, originando moléculas maiores, como a sacarose e a lactose (dissacarídeos) ou ainda em moléculas muito maiores, como a celulose, o amido e o glicogênio. Estes últimos, devido ao seu tamanho, são denominados de polissacarídeos. Os polissacarídeos são polímeros de

monossacarídeos e formam-se a partir de uma estrutura fundamental, a glicose, cujas moléculas se unem com liberação de água (DEGENS; HARRIS, 1997).

A sacarose é um açúcar que existe em muitas plantas, especialmente na cana-de-açúcar e na beterraba e é utilizada no nosso dia-a-dia como vulgar açúcar. O amido é um pó branco, insolúvel em água fria, que tem uma função de reserva vegetal e que se encontra presente nas batatas e nos cereais. O glicogênio, tal como o amido, tem funções de reserva e é armazenado no fígado. A glucose, também designada por dextrose ou açúcar da uva, é o monossacarídeo (aldo-hexose) mais abundante na natureza, estando presente nos frutos doces, como é o caso da uva e, também no mel, juntamente com a frutose. Também existe em pequenas quantidades no sangue (glicemia) e na urina. A sua fórmula molecular ($C_6H_{12}O_6$) foi estabelecida por Tollens em 1888 e a sua estrutura por Emil Fischer em 1891 (SIMÕES et al., 2001).

A glucose é constituinte de muitos oligossacarídeos, entre os quais: a maltose, dissacarídeo que se obtém por hidrólise enzimática do amido; a celobiose, que se obtém por hidrólise enzimática da celulose; a sacarose, em que a glucose se encontra combinada com a frutose; e a lactose em que a glucose se combina com a galactose. É o único componente de vários polissacarídeos como o amido, a celulose e o glicogênio. A glucose e os seus derivados são muito importantes no metabolismo da energia dos seres vivos (DEGENS; HARRIS, 1997).

A frutose é considerada um açúcar, sendo um composto sólido, incolor, cristalino e solúvel em água. Os açúcares são carboidratos e apresentam carbono, hidrogênio e oxigênio na sua composição em uma proporção de 1:2:1. A frutose é um monossacarídeo, pois é composta por seis átomos de carbono unidos em ligações covalentes simples, apresentando grupamentos hidroxila, formados por hidrogênio e oxigênio e um grupamento carbonila, formado por ligação dupla entre o carbono e o oxigênio. A posição desse grupamento é que determinará, após a hidrólise do monossacarídeo, se ele dará origem à cetona ou aldeído. A frutose, contendo o grupamento carbonila

no final da cadeia, quando hidrolisada, fornecerá cetona, e será denominada ceto-hexose. A glicose, por sua vez, quando hidrolisada, dará origem a aldeído, sendo chamada de aldohexose. A oxidação dos carboidratos é a principal via metabólica produtora de energia para a maioria das células não fotossintéticas, fornecendo um grama de frutose 16kJ de energia. (CONN, E. E.; STUMPF, P, 1980)

A frutose, também conhecida como levulose, além de ser encontrada sob forma isolada na natureza, é constituinte da sacarose (b-D-Frutofuranosil a-D-glicopiranosida) e de outros polímeros denominados fructans ou inulina. A inulina está presente na chicória, batata-doce e alcachofra de Jerusalém. A frutose é o monossacarídeo predominante em várias frutas, incluindo maçãs, laranjas e melões. Os vegetais podem conter de 1% a 2% de seu peso na forma de frutose livre e mais 3% de frutose sob a forma de sacarose. A frutose pode ser encontrada como rafinose, que é um trissacarídeo, e também como estaquiose, que é um tetrassacarídeo, em algumas leguminosas como a soja, lentilha, ervilha e feijão. Essas formas não são absorvidas pelo intestino humano, sendo fermentadas pelas bactérias no intestino grosso, gerando gases que acompanham a digestão dessas leguminosas (LEHNINGER et al., 2002).

2.3.2 Os Ácidos orgânicos

As plantas possuem a habilidade de acumular ácidos orgânicos em seus vacúolos. Isto pode ser evidenciado, por exemplo, no suco das frutas cítricas, cujo pH é de aproximadamente 2,5, devido à presença do ácido cítrico. Estes ácidos não estão restritos apenas aos frutos; eles podem aparecer também nas folhas de muitas plantas como, por exemplo, as crassuláceas, que apresentam uma notável variação das quantidades de ácidos em suas folhas durante o dia (HARBONE & BAXTER, 1995).

O ácido oxálico é o ácido mais freqüente na natureza, aparece desde bactérias até Angiospermas. Pode estar presente nas plantas em sua forma

solúvel, ou na forma de oxalato de cálcio insolúvel, cristalizado no interior das células vegetais. Quando ingerido em sua forma solúvel, o ácido oxálico irrita as mucosas do estômago e do intestino. Em seguida, é rapidamente absorvido pela mucosa intestinal e reage com o cálcio sérico, formando o oxalato de cálcio insolúvel que se deposita e obstrui os néfrons, ocasionando sérias lesões renais (COSTA, 1978). O ácido oxálico solúvel está presente em quantidades consideráveis nas folhas de espécies do gênero *Rumex* (Polygonaceae) e de espécies do gênero *Oxalis* (Oxalidaceae), sendo responsável pela toxicidade de algumas plantas destes gêneros (SCHVARTSMAN, 1979). A forma insolúvel é mais comumente encontrada no interior das células vegetais do que a forma solúvel. O oxalato de cálcio pode se apresentar na forma de vários tipos de cristais que representam estoques de cálcio ou simplesmente depósitos de restos metabólicos, que de outra forma poderiam ser tóxicos para as células e para os tecidos. A presença de algumas formas destes cristais protege as plantas contra herbívoros, pois quando ingeridos, os cristais causam sensação de queimação na mucosa bucal (PRYCHID & RUDALL, 1990).

2.4 ETANOL E SUAS CARACTERÍSTICAS

O etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), também chamado álcool etílico e, na linguagem popular, simplesmente álcool, é uma substância obtida da fermentação de açúcares, encontrado em bebidas como cerveja, vinho e aguardente, bem como na indústria de perfumaria. No Brasil, tal substância é também muito utilizada como combustível de motores de explosão, constituindo assim, um mercado em ascensão para um combustível obtido de maneira renovável e o estabelecimento de uma indústria de química de base sustentada na utilização de biomassa de origem agrícola e renovável (LIMA, 2001).

O etanol é o mais comum dos álcoois. Os álcoois são compostos de grupos hidroxilas ligados a átomos de carbono. Podem ser vistos como derivados orgânicos da água em que um dos hidrogênios foi substituído por um grupo orgânico (SOLOMONS; FRYHLE, 2002).

O etanol, cuja fórmula molecular é $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (Figura 3), é um líquido incolor, claro, volátil, inflamável, possuindo um odor agradável e característico. Apresenta peso molecular de 46,07 g, sendo como álcool etílico e de nome oficial etanol. Além de estar presente nas bebidas “alcoólicas”, o etanol tem largo emprego industrial como solvente, na produção de loções e perfumes e, ainda como combustível para automóveis. O etanol tem sido descrito como um dos mais peculiares compostos orgânicos contendo oxigênio, dado sua combinação de propriedades como solventes, germicida, anti-congelante, combustível, depressivo, componente de bebidas, além de grande versatilidade como intermediário químico para outros produtos (ALLINGER et al., 2002).

Suas propriedades físicas e químicas dependem primeiramente do grupo hidroxila – OH, o qual imputa polaridade à molécula, além de promover interações intermoleculares via ligações de hidrogênio. Essas duas características ocasionam as diferenças observadas entre os alcoóis de baixo peso molecular (incluídos aí o metanol e o etanol) e os respectivos hidrocarbonetos (SOLOMONS; FRYHLE, 1998).

O álcool é um composto orgânico que contém um ou mais grupos oxidrilas (OH) ligados diretamente à átomos de carbono saturados. Costuma-se representar um monoálcool por R-OH. Pode-se também considerá-lo como derivado da água (H-O-H) pela substituição de um hidrogênio por um grupo orgânico. A oxidrila ou hidroxila (OH) é o grupo funcional dos alcoóis, pois é a responsável pelas propriedades químicas dos compostos. A família dos alcoóis, no entanto, é muito mais numerosa e diversificada. Por exemplo, são alcoóis (ou têm o grupo funcional dos alcoóis), substâncias como a glicerina, usada em sabões, em cosméticos, nas tintas de impressão gráfica, como aditivo em alimentos etc.; os açúcares como a glicose, a sacarose etc.; o amido na batata, na mandioca, no trigo etc.; a celulose, presente no papel. (LIMA, 2001).

O etanol ou álcool etílico, de extenso uso doméstico, pode ser preparado das seguintes maneiras: por hidratação de etileno, que é obtido através do petróleo, ou por fermentação de açúcares ou cereais. No Brasil, o álcool é obtido por fermentação do açúcar da cana, que é o processo bioquímico catalisado por enzimas, e que ocorre em duas etapas: A primeira envolvendo a conversão de polissacarídeos (açúcares em monossacarídeos, partindo de quaisquer fontes naturais), a fonte ainda é a cana-de-açúcar. A segunda envolve a conversão do monossacarídeo obtido (ALLINGER et al., 2002). A figura 4 destaca o diagrama da produção de açúcar e bioetanol de cana-de-açúcar.

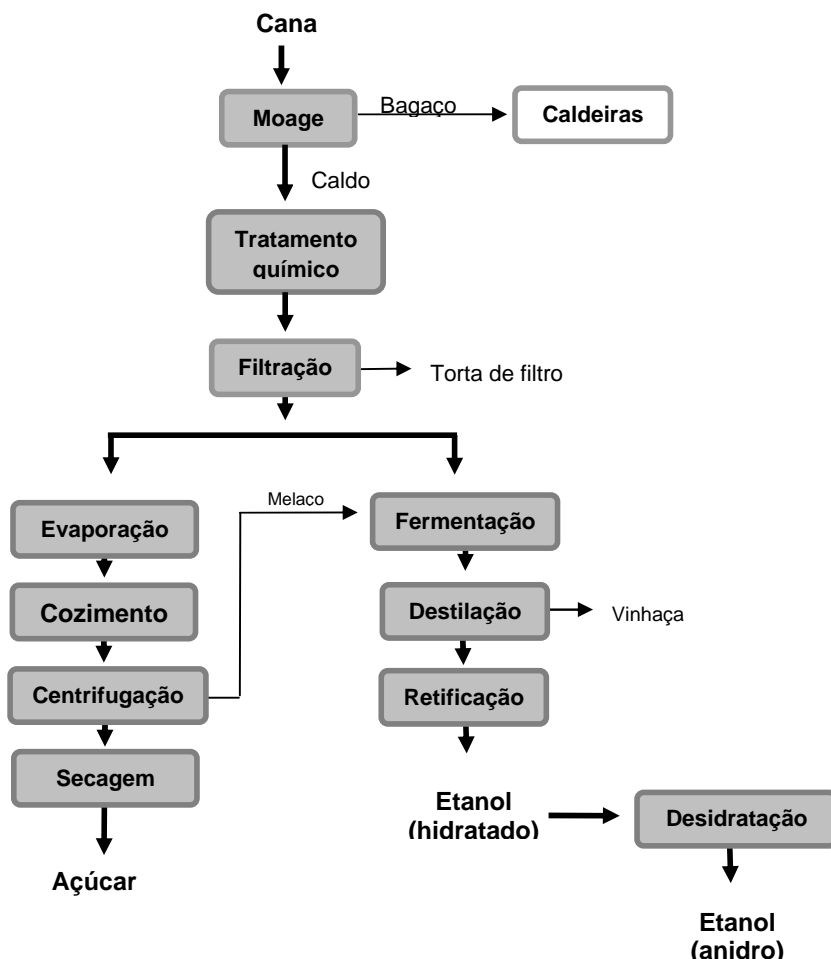


Figura 3: Diagrama de fluxo da produção de açúcar e bioetanol de cana. Fonte: SEABRA (2008).

De um modo geral, o etanol pode ser obtido pela via bioquímica de fermentações de açúcares ou pela via química de síntese, a partir da hidratação do etileno. O mais difundido é o processo de obtenção do etanol a partir da fermentação realizada por microrganismos. Diversas espécies de levedura têm a capacidade de gerar álcool etílico a partir de hidrocarbonetos. Para a qualidade e eficiência do processo, é importante que, durante a fermentação, sejam usadas linhagens únicas e com grande capacidade fermentativa. Elas devem ser acompanhadas constantemente (TORTORA et al., 2005).

Os resíduos agro-industriais são abundantes e podem ser utilizados para a produção de glicose e de produtos derivados (GACESA; HUBBLE, 1991). No Brasil, obtêm-se os mais diversos subprodutos e resíduos agro-industriais, como é o caso do bagaço de cana-de-açúcar. Em decorrência da produção do álcool etílico e do açúcar cristal a partir da cana-de-açúcar, avalia-se que, da quantidade de bagaço processado e utilizado para alimentar caldeiras, haja um excedente correspondente a 8% nas destilarias anexas a 12% nas autônomas, que poderia ser empregado na hidrólise de açúcares, como glicose, a partir da celulose contida nesse bagaço (CAMARGO, 1990). Há diversas maneiras pelas quais essa celulose pode ser transformada em açúcares livres: ação de ácidos, bases, compostos oxidantes, microrganismos ou enzimas. A degradação biológica da celulose consiste em uma hidrólise enzimática catalisada por celulases que são amplamente produzidas por fungos e bactérias (BARRICHELO; BRITO, 1985).

No Brasil, os atuais meios de produção de etanol baseiam-se na fermentação da cana-de-açúcar. Porém é possível fazer uma vasta observação direta sobre grande quantidade de resíduos, que não são utilizadas, assim como materiais que são descartadas em lixos comerciais. Partindo desta observação, surge o interesse de pesquisar novos meios de reaproveitamento desses materiais. Observa-se que o consumo de um único meio na produção de etanol torna-se insuficiente para a demanda e até mesmo seu uso intenso mostra-se prejudicial ao ambiente (ALMEIDA, 2007).

2.4.1 Caracterização do material lignocelulósico

Os materiais lignocelulósicos têm em sua composição basicamente celulose, hemicelulose e lignina, na proporção aproximada de 40 a 50%, 20 a 30% e 25 a 30% respectivamente, variando em função do tipo de material. A fração celulósica (40% - 60% da matéria seca) é um polímero linear do dímero glicose-glicose (celobiose), rígido e difícil de ser quebrado; sua hidrólise gera glicose, um açúcar de seis carbonos, cuja fermentação com *Saccharomyces cerevisiae*. Por sua vez, a fração hemicelulósica (20% a 40%) em geral, é constituída de uma cadeia principal de xilose (ligações β -1,4) com várias ramificações de manose, arabiose, galactose, ácido glicurônico, etc. A hemicelulose é muito mais fácil de ser hidrolisada do que a celulose, mas a fermentação dos açúcares de cinco carbonos (pentoses) ainda não é tão desenvolvida quanto os processos envolvendo a glicose. Esses compostos formam uma estrutura complexa e compacta, cujas características também dependerão do tipo de material a ser processado (bagaço ou palha de cana e diferentes variedades de cana, entre outros) (ALMEIDA, 2007).

2.5 ASPECTOS GERAIS DA CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum L.*)

A cana-de-açúcar é uma planta semiperene com ciclo fotossintético do tipo C_4 , pertencente ao gênero *Saccharum*, da família das gramíneas, composta de espécies de gramas altas perenes, oriundas de regiões temperadas quentes a tropicais da Ásia, especialmente da Índia. A parte aérea da planta é composta pelos *colmos*, nos quais se concentra a sacarose, e pelas *pontas e folhas*, que constituem a palha da cana, como mostrado na Figura 4. Todos esses componentes somados totalizam cerca de 35 toneladas de matéria seca por hectare. Um dos cultivos comerciais de maior importância em todo o mundo, a cana ocupa mais de 20 milhões de hectares, nos quais foram produzidos, aproximadamente, 1.300 milhões de toneladas em 2006/2007, com destaque para o Brasil, que, com uma área plantada de cerca de 7 milhões de hectares, respondeu por cerca de 42% do total produzido (FURTADO, 2008).

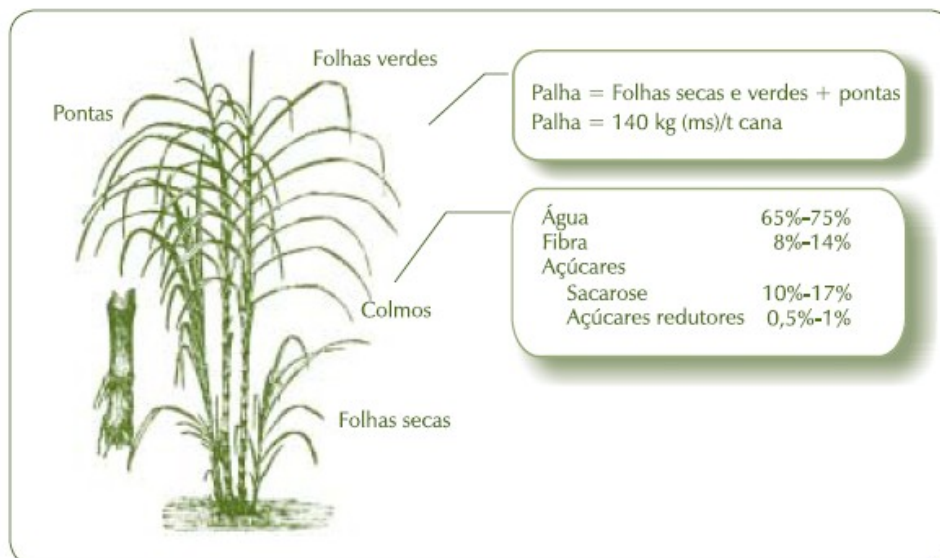


Figura 4: Estrutura típica da biomassa da cana-de-açúcar. Fonte: FAOSTAT (2008).

O clima ideal para o cultivo da cana é aquele que apresenta duas estações distintas: uma quente e úmida, para proporcionar a germinação, o perfilhamento (formação de brotos) e o desenvolvimento vegetativo, seguida de outra fria e seca, para promover a maturação e o acúmulo de sacarose nos colmos. A cana não apresenta boa produtividade em climas como o das regiões equatoriais úmidas, por isso faz pouco sentido imaginar que a Amazônia se preste a cultivos comerciais extensivos dessa planta. O ciclo completo da cana-de-açúcar é variável, dependendo do clima local, de variedades e práticas culturais (LANDELL, 2003).

No Brasil, o ciclo é, geralmente, de seis anos, dentro do qual ocorrem cinco cortes, quatro tratos de soqueiras e uma reforma, como se explica a seguir. De forma geral, o primeiro corte é feito 12 ou 18 meses após o plantio (dependendo da cana utilizada), quando se colhe a chamada cana-planta. Os demais cortes, quando se colhe a cana-seca resultante da rebrota, são feitos uma vez por ano, ao longo dos quatro anos consecutivos, com redução gradual da produtividade, até que se torne economicamente mais interessante reformar o canavial do que efetuar um novo corte. Substitui-se, então, a cana antiga por um novo plantio e inicia-se um novo ciclo produtivo. Nessa reforma do canavial,

a área cultivada fica alguns meses em descanso e pode receber outros cultivos de ciclo curto, como leguminosas. O período da colheita da cana varia de acordo com o regime de chuvas, de modo a tornar possíveis as operações de corte e transporte e para permitir alcançar o melhor ponto de maturação e acumulação de açúcares (LORA, 2006).

2.6 ASPECTOS GERAIS DO ASSACU (*Hura crepitans*)

Ocorre em toda a Amazônia, em matas de várzea, de solo argiloso e alagadiço, margeando os rios. Distribuem-se nas Guianas, Antilhas, América Central, Peru e Bolívia (LANDELL, 2003).

Segundo a EMBRAPA (2006), o Assacu pertence à família: Euphorbiaceae, com nome científico *Hura crepitans* L., conhecida popularmente como assacu, açacu, uassacu. No exterior: Arenillero, Catauá, Possum wood, Rakuda, Sablier, Sand Box. O contato do látex com a pele causa irritação, formando bolhas; em contato com os olhos, causa conjuntivite e dor; no sistema digestivo, provoca náuseas e vômito, bem como queimação na boca e na faringe. Em sua descrição botânica, a árvore com espinhos, que usualmente cresce de 25 a 30 m em altura (podendo atingir até 40 m), por 0,80 a 1,80 m de diâmetro. Em condições muito favoráveis alcança 66 m de altura por 2,10 m de diâmetro, acima das sapopemas. Como características gerais apresentam-se como uma madeira leve (0,35 a 0,40 g/cm³), de cor branca com tonalidade levemente amarelada, ou variando de branca a bege; albarno indistinto do cerne; macia, muito fácil de trabalhar; textura média; grã direita a irregular; superfície lisa ao tato; cheiro e gosto indistintos (Figura 5). Poros visíveis a olho nu, poucos, médios e grandes, solitários, geminados chegando a compor algumas cadeias radiais, alguns vazios, na maioria obstruídos por tilos brilhantes. Linhas vasculares distintas sem auxílio de lente, longas e retilíneas. Raios no transversal muito delgados e numerosos, visíveis apenas sob lente, com uniformidade na largura e espaçamento; no plano tangencial são irregularmente distribuídos, pouco visíveis mesmo sob lente. Parênquima axial visível apenas sob lente, difuso, agregado e formando trechos de linhas

tangenciais, formando com os raios retículo irregular. Camadas de crescimento pouco distintas. Apresenta baixa resistência à ação de fungos xilófagos, sendo muito atacada por grupos manchadores.



Figura 5: *Hura crepitans* L (Assacu).
Foto: Débora Gikovate Barg

Pelo teor de fibras, que chegam a 67% do volume de lenho, pode ser usado para produção de polpa de celulose. É árvore de crescimento rápido, e originária das áreas inundáveis da região amazônica (LANDELL, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETAS DE AMOSTRAS DO SOLO

As amostras de solo foram coletadas na Província Petrolífera de Urucu - AM, localizada no município de Coari, distante a 600 km de Manaus-Am, e de áreas de florestas próximas à Manaus, como as reservas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) (Tabela 1).

Tabela 1: Amostras de solos

Nº	LOCAIS DE COLETA	IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS
1	Província Petrolífera de Urucu - AM	Ponto 2 Ponto 3
2	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) – Campus I - Sede	INPA 1 INPA 3
3	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) – Campus III - V-8	INPA 12 INPA 13

As amostras foram acondicionadas em saco de polietileno em ambiente natural para o desenvolvimento dos experimentos (Figura 8).



Figura 6: **A:** Amostras de solo da Província Petrolífera de Urucu – AM
B: Amostra de solo do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)

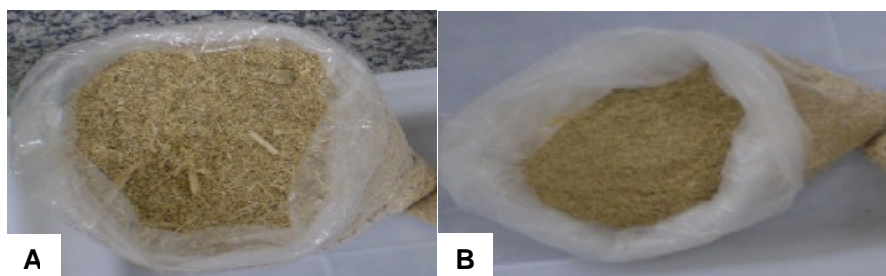
As amostras de solo foram analisadas quimicamente pelas metodologias recomendadas pela EMBRAPA (1977) e apresentaram as seguintes características (Tabela 2):

Tabela 2: Características químicas dos solos usados nos experimentos.

AMOSTRAS DE SOLOS						
CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	Ponto 2	Ponto 3	INPA 1	INPA 3	INPA 12	INPA 13
pH (H ₂ O)	4,0	3,9	5,4	5,5	6,2	6,0
N(%)	0,23	0,20	0,42	0,44	0,32	0,22
MO (%)	4,44	2,47	5,54	4,69	3,50	2,13
Ca (cmol/kg)	0,10	0,06	18,80	16,82	7,12	5,90
Mg (cmol/kg)	0,35	0,19	0,93	0,90	0,78	0,70
K (mg/kg)	57,0	37,5	102,0	58,5	102,0	42,0
Al (cmol/kg)	1,26	1,08	0,35	0,34	0,31	0,30
P (mg/kg)	0,60	0,83	4,80	3,64	32,2	5,5
Fe (mg/kg)	490	417	96	86	74	50
Zn (mg/kg)	0,9	0,6	21,6	12,4	34,4	19,8
Mn (mg/kg)	1,5	1,7	13,1	10,1	23,3	9,8

3.2 MATERIAL VEGETAL

Foram utilizados neste estudo, o bagaço de cana-de-açúcar (*Saccharum L.*) e pó de serragem da espécie madeireira Assacu (*Hura crepitans L.*) (Figura 9).



**Figura 7: Material Vegetal: A: Bagaço de cana-de-açúcar
B: Pó de serragem de Assacu**

O material utilizado serviu como fontes de carbono para avaliar a capacidade dos microrganismos em converterem material orgânico em sólidos solúveis.

3.3. AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES MICROBIANAS UTILIZANDO SOLOS E MATERIAL VEGETAL – LEITURA DO GRAU BRUX

Para a realização do 1º experimento, foram usados os solos apresentados na Tabela 1, que em testes preliminares apresentaram maiores produções de sólidos solúveis (de um total de 20 amostras de solo) quando enriquecidos com a serragem de assacu ou bagaço de cana moído (dados não apresentados). Esse experimento foi realizado em laboratório, usando recipientes de vidro com capacidade para 250 mL, nos quais foram adicionados 10 g de cada amostra de solo a ser testada, 2 g de assacu ou 2 g de cana-de-açúcar e 4 mL de água destilada. Foram usados três vidros para cada tratamento como repetições, dando um total de 72 parcelas (seis solos x dois tipos de material vegetal moído x 3 repetições).

Em adição a esses tratamentos, foram acrescentados ainda, duas testemunhas com três repetições cada uma, consistindo da adição de assacu ou bagaço de cana-de-açúcar, nas quais foram somente utilizados o material vegetal e água destilada. Com exceção dos solos, todo o material usado no experimento foi esterilizado em autoclave antes da adição das amostras de solo.

Após a instalação do experimento no laboratório, foram realizadas leituras periódicas através do refratômetro portátil, para leitura do grau brux,

espaçadas aproximadamente a cada sete dias, para verificação a produção de sólidos solúveis pelos microrganismos presentes em cada uma das amostras de solos utilizadas. Foi adicionada periodicamente em todos os vidros, água destilada e esterilizada sempre que necessário.

3.4 AVALIAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS PELA DECOMPOSIÇÃO DO MATERIAL VEGETAL NOS SOLOS QUE SE DESTACARAM

Para a realização do 2º experimento, foram utilizados os solos que se destacaram no 1º experimento, denominados de Ponto 2, Ponto 3, ambos da área de Urucu-AM e, INPA 3 da área do INPA. Para este experimento, onde foi observada a produção de sólidos solúveis pela microbiota desses solos, foram utilizados 5 g de cada solo, acrescentando-se como fonte de carbono, 0,5 g de serragem de assacu ou 0,5 g de bagaço de cana-de-açúcar e 50 mL de uma solução com nutrientes (Tabela 3, Atlas, 1995), visando acelerar o processo de decomposição desse material vegetal e maior produção de sólidos solúveis, acondicionados em erlenmeyers de 125 mL. Para cada material vegetal foram feitas triplicatas, totalizando 9 amostras de assacu e 9 amostras de bagaço de cana-de-açúcar. Para cada material vegetal foi feito um tratamento testemunha com triplicata, consistindo apenas amostra de solo, no qual servirá de comparativo.

Tabela 3: Experimento das amostras de solo com bagaço de cana-de-açúcar moído ou pó de serragem de assacu.

Amostras de solo	5,0 g
Bagaço de cana-de-açúcar	0,5 g
Assacu	0,5 g
50 mL de solução (Atlas, 1995), contendo:	
Fosfato de Potássio - K_2HPO_4	1,0 g
Fosfato de Potássio - KH_2PO_4	1,0 g
Sulfato de Amônia $(NH_4)_2SO_4$	1,65 g
Sulfato de Magnésio - $MgSO_4$	0,2 g
Cloreto de Ferro - $FeCl_3$	0,05 g
Cloreto de Cálcio - $CaCl_2$	0,02 g
Água (H_2O)	1000 mL

Após preparação das amostras, estas foram colocadas em agitador de mesa, a 75 rpm visando homogeneização e oxigenação contínua.

Periodicamente foram coletadas amostras da solução para a medição de sólidos solúveis produzidos pelos microrganismos desses solos, usando como referencial a medição do seu grau brix aos 4, 7, 11, 13, 16, 20, 24, 44, 55, 58, 73, 74, 76 dias, perfazendo um total de 13 leituras, acrescentando a solução de Atlas (1995) sempre que necessário (Figura 11).



Figura 8: Medição do grau brix nos experimentos

3.5 MICRORGANISMOS CAPAZES DE CONSUMIR BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR MOÍDO E PÓ DE SERRAGEM DE ASSACU PARA A PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS

As amostras de solo que apresentaram boas produções de sólidos solúveis dos experimentos anteriores foram usadas para o isolamento de fungos e bactérias responsáveis por essa conversão usando o bagaço de cana ou o assacu como fontes de carbono. Foram isolados diversos microrganismos e alguns deles, apresentados na Tabela 4, serviram de tratamentos para

avaliar seus potenciais de produção de sólidos solúveis usando esses dois materiais vegetais como fontes de carbono.

Tabela 4: Microrganismos testados quanto à produção de sólidos solúveis usando bagaço de cana ou assacu como fonte de carbono.

Tipo de microrganismo	Identificação inicial	Identificação final	Fonte de inóculo (Solo – Material vegetal)
Fungo	1A 2F4	INPA 1FA	INPA 1 - Assacu
Fungo	3C2	INPA 2FC	INPA 13 - Cana
Fungo	FA	INPA 3FA	INPA 12 - Assacu
Fungo	9C1	INPA 4FC	INPA 13 - Cana
Fungo	INPA 3aFA	INPA 5FA	INPA 3 - Assacu
Fungo	INPA 3aF5	INPA 6FA	INPA 3 - Assacu
Fungo	Ponto 2CF5	INPA 7FC	Ponto 2 - Cana
Fungo	Ponto 3aF	INPA 8FA	Ponto 3 - Assacu
Fungo	TC 10	INPA 9FC	Não identificada
Bactéria	1A1	INPA 1BA	INPA 1 - Assacu
Bactéria	3 A1	INPA 2BA	INPA 3 - Assacu
Bactéria	7A1	INPA 3BA	INPA 12 - Assacu
Bactéria	10 A1	INPA 4BA	INPA 1 - Assacu
Bactéria	10 A2	INPA 5BA	INPA 1 - Assacu
Bactéria	INPA 3a	INPA 6BA	INPA 3 - Assacu
Bactéria	Ponto 3a	INPA 7BA	Ponto 3 - Assacu

O primeiro experimento usando esses microrganismos purificados consistiu em se testar os fungos individualmente e um tratamento com a mistura de todos eles, além de um tratamento testemunha, no qual nenhum microrganismo foi colocado em contato com o material vegetal. Foram usados o bagaço de cana e o assacu como fontes individuais de carbono para esses microrganismos, com três repetições para cada tratamento. Desse modo, o delineamento experimental consistiu de um experimento inteiramente casualizado com três repetições, usando-se dois materiais como fontes de carbono e oito fungos como tratamentos individuais, um com a mistura deles e

uma testemunha para cada um dos dois materiais vegetais, dando um total de 20 tratamentos e 60 parcelas experimentais.

O experimento foi realizado em condições de laboratório a uma temperatura variável de 26-29°C, usando-se saquinhos plásticos com capacidade de 250 mL onde foram colocados 5 mL da solução de Atlas (1995, Tabela 3), 0,5 mL de uma suspensão contendo cerca de 10^7 UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por mL e 0,5 g de bagaço de cana ou assacu. Esses saquinhos foram colocados individualmente dentro de copos de plásticos com capacidade de 330 mL como suportes. Nos tratamentos testemunhas foram colocados 5,5 mL da solução modificada de Atlas (1995) (Tabela 5) para que a relação 5,5mL de solução/0,5 g de material vegetal ficasse igual em todos os casos. Periodicamente foram medidos os teores de sólidos solúveis usando o refratômetro portátil, para a leitura do grau brix (Figura 11).

Tabela 5: Solução de Nutrientes modificada de Atlas (1995)

Fosfato de Potássio - K_2HPO_4	1,0 g
Fosfato de Potássio - KH_2PO_4	1,0 g
Sulfato de Amônia $(NH_4)_2SO_4$	3,3 g
Sulfato de Magnésio - $MgSO_4$	0,2 g
Cloreto de Ferro – $FeCl_3$	0,05 g
Cloreto de Cálcio – $CaCl_2$	0,01 g
Sulfato de Zinco – $ZnSO_4$	0,01 g
Sulfato de Cobre – $CuSO_4$	0,01 g
Água (H_2O)	1000 mL

O segundo experimento com microrganismos purificados foi realizado com as bactérias descritas na tabela 4, usando-se ainda, um tratamento com a mistura delas e um testemunha para ambos os materiais vegetais. A metodologia adotada foi a mesma usada para o experimento dos fungos descrita no parágrafo acima, usando suspensões de células contendo 10^8 UFC por mL.

Os terceiro e quarto experimentos foram realizados idênticos aos acima citados, mas modificando novamente a solução de Atlas (1995) aumentando a

quantidade de sulfato de amônio para 8,25 g por litro visando aumentar o teor de nitrogênio na solução, tendo em vista a alta relação C/N do material vegetal.

3.6 EFEITO DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SÓLVEIS POR BACTÉRIAS E FUNGOS USANDO BAGAÇO DE CANA COMO FONTE DE CARBONO

O último experimento consistiu de se testar o efeito da temperatura na produção de sólidos solúveis por alguns desses microrganismos. Foram selecionados os melhores dos experimentos anteriores usando apenas bagaço de cana como fonte de carbono e as temperaturas de laboratório (26-28°C) e 40°C para avaliar a produção de sólidos solúveis. A metodologia utilizada foi de acordo com a dos terceiro e quarto experimentos, mas colocando o material vegetal, solução e suspensões de microrganismos em frascos de vidro com capacidade para 250 mL. sem tampas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS DA MICROBIOTA DE SOLOS AMAZÔNICOS

O potencial da microbiota dos solos em produzir sólidos solúveis usando o assacu como fonte de carbono (Figura 9), considerando a média de leitura do grau brix durante o tempo de condução do experimento, indicou variação entre as amostras. Observou-se que as duas amostras de urucu apresentaram os maiores valores. A amostra de solo identificada como Ponto 3 apresentou em torno de 4,6^o brix e a denominada de Ponto 2, 4,0^o brix. As microbiotas dos solos coletados dentro do INPA produziram menos, sobressaindo a amostra INPA 3 com 3,2^o brix, seguida das INPA 1 e INPA 13. A microbiota do solo INPA 12 apresentou teor médio de sólidos solúveis equivalente aos observados na testemunha (ausência de solo), sugerindo que não estava convertendo serragem de assacu em produtos solúveis ou então, que estava consumindo esses elementos solúveis na mesma taxa que a produzia. Essa segunda suposição pode ser a que prevaleceu, tendo em vista os valores observados aos 17 e 22 dias de incubação (Tabela 6), cujos valores de graus brix foram maiores do que os observados na testemunha.

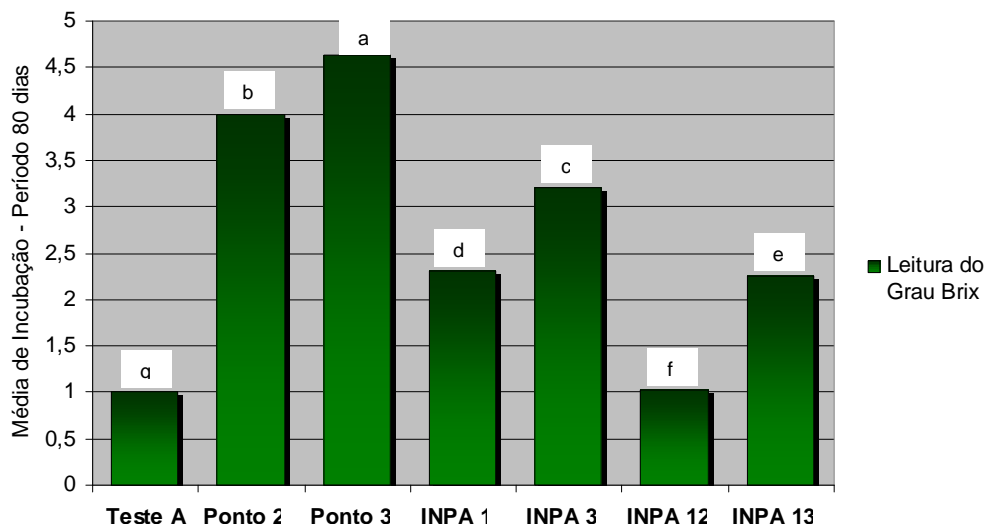


Figura 9: Médias das produções de sólidos solúveis pelas microbiotas de solos usando serragem de assacu como fonte de carbono.

Ao analisar a tabela 6 com mais detalhes, observou-se que diferenças na produção de sólidos solúveis apresentaram-se já aos 8 dias de incubação, sobressaindo-se as microbiotas dos solos Ponto 2, INPA 3 e INPA 13. No entanto, as maiores produções desses compostos foram observados no período entre 32 e 60 dias de incubação, declinando após esse período, conforme pode ser observado pelas médias de cada dia de avaliação. Os maiores valores foram observados com a microbiota do solo denominado de Ponto 3, da Província Petrolífera de Urucu - AM, aos 47 e 57 dias, com leitura de 8,3º brix, diminuindo para 6,3º brix na análise feita três dias após. A maior produção de sólidos solúveis pela microbiota do solo Ponto 2 ocorreu aos 65 e 77 dias de incubação, enquanto a do INPA 3 aos 60 dias e, a do solo INPA 13 aos 47 e 57 dias, mesmo período de maior produção ocasionada pela do solo Ponto 3, mas com valores bem inferiores (Tabela 6).

Para isso, os microrganismos produziram enzimas capazes de degradar o assacu, tais como hemicelulose, celulose ou lignina, principais componentes da estrutura do material vegetal (VAN SOEST, 1994), convertendo-as em sólidos solúveis. No entanto, as diferenças entre as produções quanto aos valores e períodos sugerem sistemas enzimáticos e/ou dinâmica microbiana diferentes ao se comparar as amostras de solos estudadas.

Tabela 6: Produção de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos usando serragem de assacu como fonte de carbono.

SOLOS	DIAS DE INCUBAÇÃO										
	8	14	17	22	32	47	57	60	65	77	80
	ºBrix										
Testem.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Ponto 2	1,8	2,0	3,6	4,3	5,0	5,1	5,0	5,3	6,0	6,0	3,0
Ponto 3	1,0	1,5	4,0	4,0	5,6	8,3	8,3	6,3	4,5	4,6	3,0
Inpa 1	1,0	1,5	3,0	3,3	3,0	3,8	3,0	2,8	1,1	4,0	2,0
Inpa 3	1,3	1,5	3,3	3,6	4,6	3,3	4,5	5,1	2,8	3,3	2,0
Inpa 12	1,0	1,1	1,8	1,6	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	0,3	1,0
Inpa 13	1,3	1,5	3,3	3,3	2,0	3,6	2,3	1,5	1,5	2,5	2,0

Médias	1,2	1,4	2,9	3,0	3,2	3,7	3,6	3,3	2,5	3,1	2,0
--------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Ao se analisar a atividade das microbiotas desses solos colocando-se bagaço de cana moído (Figura 10 e tabela 7) como fonte de carbono, observou-se também, uma variação das produções de sólidos solúveis. Nesse caso, todas as microbiotas produziram quantidades significativas desses compostos quando comparadas com a testemunha (Figura 10). A microbiota que converteu mais bagaço de cana em sólidos solúveis foi a da amostra Ponto 3, seguida da INPA 3, Ponto 2 e INPA 13. As com menores produções foram as das amostras INPA 1 e INPA 12.

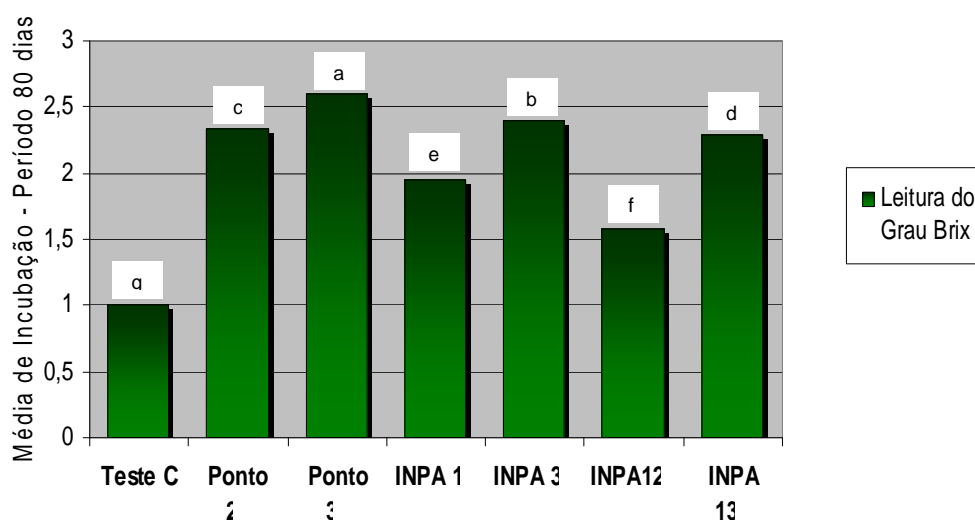


Figura 10: Médias das produções de sólidos solúveis pelas microbiotas de solos usando bagaço de cana moído como fonte de carbono.

No entanto, ao contrário dos resultados obtidos com a serragem de assacu, os maiores valores foram observados no início do experimento (Tabela 7), talvez devido aos resíduos de açúcares contidos no bagaço e a presença de componentes vegetais de mais fácil decomposição no início. Diferentes comportamentos foram observados, como por exemplo, as maiores produções de sólidos solúveis ocasionadas pelas microbiotas dos solos de urucu (Ponto 2 e Ponto 3) ocorreram no oitavo e no sexagésimo dia, enquanto que as das

amostras INPA 3 e INPA 13 ocorreram nos dias 8, 57 e 60. As microbiotas das amostras INPA 1 e INPA 12 só apresentaram boa produção de sólidos solúveis no oitavo dia.

Tabela 7: Produção de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos usando bagaço de cana-de-açúcar moído como fonte de carbono.

SOLOS	DIAS DE INCUBAÇÃO										
	8	14	17	22	32	47	57	60	65	77	80
	°Brix										
Testem.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Ponto 2	4,0	2,0	1,5	2,7	0,0	1,7	2,0	4,2	2,0	3,1	2,5
Ponto 3	3,5	1,5	1,5	2,1	3,0	2,3	2,0	3,3	2,6	3,8	3,0
Inpa 1	3,3	1,5	1,5	2,0	1,5	1,0	2,0	1,8	2,6	2,3	2,0
Inpa 3	3,1	1,5	1,5	2,0	2,0	1,7	3,5	3,6	2,1	3,0	2,5
Inpa 12	3,0	1,5	1,5	2,1	1,5	1,1	1,5	1,0	2,2	0,9	1,0
Inpa 13	3,1	1,5	3,0	2,8	0,0	2,0	4,0	3,0	2,1	1,7	2,0

Whitman et al. (1998) mencionam que o solo é um importante habitat para os microrganismos, onde eles desempenham papel fundamental na decomposição da matéria orgânica do solo, catalisando transformações únicas e indispensáveis no ciclo global do carbono e do nitrogênio. Em contrapartida Paoletti & Bressan (1996) descrevem que o solo pode apresentar mais de 10.000 espécies por grama de organismos de difícil identificação e representa cerca de 85% da biomassa ou 90% do fluxo de CO₂ entre componentes bióticos responsáveis pela decomposição de serrapilheiras em florestas decíduais.

Essa diversidade de microrganismos poderia explicar as diferenças encontradas nas atividades observadas no presente trabalho, quando se compara as amostras de solo e a adição de diferentes materiais vegetais como o assacu e a cana-de-açúcar.

4.1.1 AVALIAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLOS USANDO UMA SOLUÇÃO COM NUTRIENTES

No 2º experimento, no qual foram utilizados apenas os solos que se destacaram no 1º experimento: Ponto 2, Ponto 3 e INPA 3, procurou-se usar uma solução de nutrientes (Atlas, 1995, Tabela 5) ao invés de água destilada e esterilizada. O objetivo foi acrescentar nutrientes ao solo esperando que suas presenças aumentassem a taxa de produção de sólidos solúveis, tendo em vista a baixa fertilidade dos solos (Tabela 2) usados nessa pesquisa, os quais representam as condições de acidez e baixa fertilidade dos solos de terra firme da Amazônia (COCHRANE et al., 1985). As amostras de solo passaram por um período de incubação de 74 dias em agitado de mesa, com leituras freqüentes para todos os tratamentos.

Os resultados médios obtidos indicam diferenças significativas ao se comparar as ações das microbiotas dos solos em relação à testemunha, onde se encontrava apenas a solução nutritiva e o material vegetal moído e esterilizado (Figura 11).

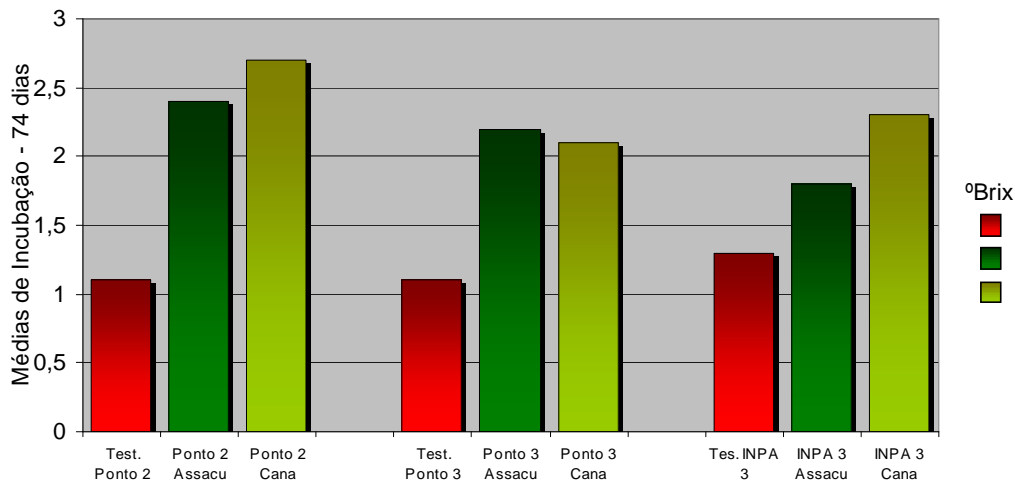


Figura 11: Médias das produções de sólidos solúveis pelas microbiotas de solos usando assacu ou bagaço de cana como fonte de carbono e solução de nutrientes de Atlas (1995).

Observou-se que a amostra controle (sem adição de material vegetal) do solo INPA 3 destacou-se com média em torno de 1,3º brix, apresentando

maior teor de sólidos solúveis, enquanto que os tratamentos controle do Ponto 3 e Ponto 2 apresentaram médias em torno de 1,1º brix.

Uma análise mais detalhada dos dados (Tabela 8) indicou que a solução nutritiva teve pouca influência no acúmulo de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos, podendo ser devido ao maior consumo desses microrganismos, necessário aos seus crescimentos.

Nas parcelas testemunhas, onde a fonte de carbono foi proveniente apenas da matéria orgânica do solo, observa-se que o máximo de sólidos solúveis foi encontrado no solo Ponto 3 aos 73 e 74 dias de incubação (Tabela 8). Os demais valores de sólidos solúveis observados durante todo o período de condução dos experimentos variaram de 0,4 a 2,0 graus brix.

Tabela 8: Produção de sólidos solúveis pelas microbiotas dos solos usando solução nutritiva e material vegetal moído como fonte de carbono

SOLOS	DIAS DE INCUBAÇÃO											
	4	7	11	13	16	20	24	44	55	58	73	74
º Brix												
Testemunha												
Ponto 2	0,8	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,0	2,0
Ponto 3	0,7	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,2	2,2
Inpa 3	0,4	0,9	1,0	1,0	1,2	1,0	1,3	2,0	2,0	1,0	2,0	2,0
Médias	0,6	0,9	1,0	1,0	1,1	1,0	1,1	1,3	1,3	1,0	2,0	2,0
Assacu												
Ponto 2	0,7	1,5	1,1	1,7	2,0	2,1	2,0	2,6	4,3	4,3	3,3	3,6
Ponto 3	0,8	1,0	1,0	1,8	2,0	2,0	3,0	2,3	3,3	3,6	3,0	3,0
Inpa 3	0,5	1,0	1,0	1,4	2,1	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	3,0	3,0
Médias	0,6	1,1	1,0	1,6	2,0	2,0	2,3	2,3	3,2	3,3	3,1	3,2
Bagaço de cana-de-açúcar												
Ponto 2	0,8	1,1	1,0	1,6	3,1	3,2	3,5	3,0	3,0	3,0	5,0	5,0
Ponto 3	0,7	0,8	1,1	2,2	2,0	2,0	2,8	2,6	3,0	3,0	2,8	3,0
Inpa 3	0,4	1,3	1,0	1,7	2,0	2,0	3,5	2,3	2,3	2,6	4,6	4,6
Médias	0,6	1,0	1,0	1,8	2,3	2,4	3,2	2,6	2,7	2,8	4,1	4,2

Quando foi adicionado o assacu como fonte de carbono, os teores de sólidos solúveis chegaram a atingir o valor máximo de 4,3 graus brix na amostra de solo Ponto 2 aos 55 e 58 dias de incubação. O solo Ponto 3 começou a ter seus valores aumentados a partir dos 55 dias de incubação,

com os valores diminuindo aos 73 e 74 dias, possivelmente pelo maior consumo dos microrganismos de sólidos solúveis ou, pela exaustão de um componente de mais fácil decomposição presente no material vegetal como a hemicelulose ou celulose.

Quando foi adicionado o bagaço de cana como fonte de carbono, o valor máximo de sólidos solúveis ocorreu também no solo Ponto 2, aos 73 e 74 dias de incubação com 5,0 graus brix. De um modo geral, a produção de sólidos solúveis foi maior ao se usar o bagaço de cana do que a serragem de assacu, com os maiores valores ocorrendo no final do experimento, descartando a possibilidade de isso ter ocorrido devido aos resíduos de açúcares presentes no bagaço. Se houvesse esse efeito, o mesmo teria ocorrido no início do experimento e não no fim.

Pelczar et al. (1981) citam que os compostos orgânicos de carbono, depositados no solo, são decompostos pela atividade microbiana, e o dióxido de carbono é liberado no ar e no solo. Mencionam ainda que o material orgânico mais abundante nas plantas é a celulose, facilmente atacada por muitas espécies de bactérias e fungos. A ação enzimática inicial é feita pela celulase, a qual desdobra este polímero de glicose, de longa cadeia, em celobiose, esta contendo duas unidades de glicose. A celobiose é levada a glicose pela enzima B-glicosidade, a glicose, enfim, é facilmente metabolizada por muitos microrganismos. A oxidação fornece CO_2 e H_2O . Toda decomposição é uma seqüência de oxidações e reduções de uma substância orgânica até água e gás carbônico.

4.2 BACTÉRIAS PRODUTORAS DE SÓLIDOS SÓLVEIS USANDO SERRAGEM DE ASSACÚ E DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Para esse experimento foi utilizada a solução modificada de Atlas (1995), conforme mostrado na Tabela 5, podendo-se observar pela tabela 9, que não houve produção significativa de sólidos solúveis pelas bactérias testadas ao se usar a serragem de assacu como fonte de carbono. Os

resultados obtidos indicam que valores numéricos abaixo da unidade (1,0) obtida no tratamento testemunha (sem bactérias) foram observados em alguns casos. Se houve alguma produção significativa de sólidos solúveis por essas bactérias, elas então usaram esses produtos para seu crescimento evitando que se acumulassem e elevassem os valores de grau brix.

Por outro lado, nos tratamentos onde foi utilizado o bagaço de cana-de-açúcar, houve uma produção de sólidos solúveis pelas bactérias quando comparadas com o tratamento testemunha (Teste) sem microrganismos (Figura 12).

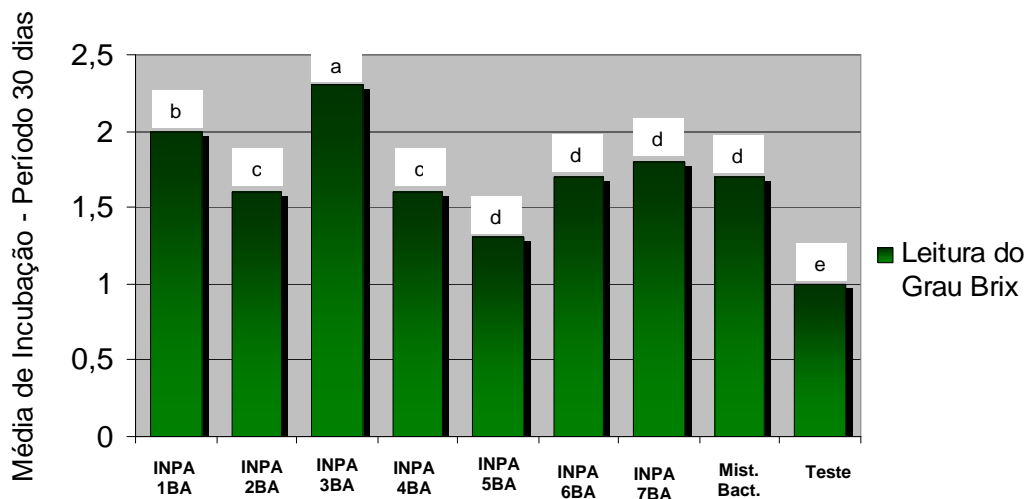


Figura 12: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes

Nestes tratamentos, a bactéria INPA 3BA destacou-se com 2,3^o brix apresentando maior teor de sólidos solúveis, seguido de INPA 1BA com 2,0^o brix e INPA 7BA com 1,8^o brix. AS demais bactérias apresentaram médias variando de 1,7^o brix a 1,0^o brix (Tabela 9).

Tabela 9: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando assacu como fonte de carbono.

Bactérias	Dias de Incubação							
	03	09	13	16	23	27	30	34
	°Brix							
INPA 1BA	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0
INPA 2BA	0,8	0,9	0,8	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0
INPA 3BA	0,8	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
INPA 4BA	0,8	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
INPA 5BA	0,8	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
INPA 6BA	0,9	1,0	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0
INPA 7BA	0,9	1,0	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0
Mistura Bact.	0,9	0,9	0,9	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0
Testemunha	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Ao se analisar em detalhes cada tratamento (Tabela 10), observou-se que os maiores valores de sólidos solúveis medidos em grau brix foram os de 3,3 produzidos pela bactéria INPA 3A e 3,1 pelo tratamento com a mistura de todas as bactérias, ambos ocorrendo aos 23 dias de incubação.

Tabela 10: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana como fonte de carbono.

Bactérias	Dias de Incubação							
	03	09	13	16	23	27	30	34
	°Brix							
INPA 1BA	1,1	1,4	2,2	1,8	1,9	1,9	2,8	2,6
INPA 2BA	1,1	1,0	1,5	1,2	1,8	2,0	2,0	2,0
INPA 3BA	1,8	1,8	1,8	2,0	3,3	2,7	2,4	2,4
INPA 4BA	1,4	1,0	1,4	1,1	2,1	2,3	2,0	2,0
INPA 5BA	1,0	1,0	1,1	1,1	1,4	1,8	1,7	1,7
INPA 6BA	1,6	1,0	1,9	1,7	1,7	1,7	2,0	2,0
INPA 7BA	1,2	1,2	1,9	1,7	2,5	1,9	1,9	1,9
Mistura Bact.	1,8	1,4	2,4	1,5	3,1	1,9	2,0	2,0

Testemunha	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
-------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Ao serem comparados os resultados com o tratamento controle o qual apresentou média de 1,0%, os resultados foram considerados relevantes, sendo portando, os sólidos solúveis consumidos pelas bactérias. Sugere-se que essa diferença de comportamento das bactérias quanto à fonte de carbono (assacu ou bagaço de cana) tenha ocorrido pelo fato da composição química do assacu ser diferente da cana-de-açúcar.

4.3 FUNGOS PRODUTORES DE SÓLIDOS SÓLÚVEIS USANDO SERRAGEM DE ASSACÚ E DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Observa-se que também nesse caso, como nas bactérias, que não houve acúmulo significativo de sólidos solúveis ao se utilizar o assacu como fonte de carbono para os fungos (Tabela 11).

Tabela 11: Produção de sólidos solúveis por fungos usando assacu como fonte de carbono na presença de uma solução com nutrientes.

Fungos	Dias de Incubação				
	03	06	15	20	24
	°Brix				
INPA 1FA	0,8	0,8	1,0	0,9	1,0
INPA 2FC	0,7	0,8	1,8	1,0	1,0
INPA 3FA	0,8	0,8	1,6	1,0	1,0
INPA 4FC	0,8	0,8	1,8	1,0	1,0
INPA 5FA	0,8	0,9	2,0	1,0	1,0
INPA 6FA	0,8	0,8	1,2	1,0	1,0
INPA 7FC	0,8	0,8	1,4	1,0	1,0
INPA 8FA	0,8	0,8	1,5	1,0	1,0
Mistura Fungos	0,8	0,8	1,2	1,0	1,0

Testemunha	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
------------	-----	-----	-----	-----	-----

Para estes tratamentos, a análise estatística evidenciou que não houve diferença ao nível de 95% para os fungos testados, que apresentaram teores de sólidos solúveis similares aos observados no tratamento testemunha, com média de 1,0^o brix. A média para os tratamentos ficou em torno de 0,9^o a 1,1^o brix de teor de sólidos solúveis, concluindo que o acúmulo de sólidos solúveis pelos fungos não foi significativo.

Do mesmo modo que para as bactérias, ao se usar o bagaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono ocorreu acúmulo significativo de sólidos solúveis pelos fungos (figura 12, Tabela 12).

A amostra denominada de INPA 2FC apresentou média de 1,4^o brix, seguida de INPA 3FA, INPA 7FC e INPA 8FA com 1,3^o brix (Figura 13).

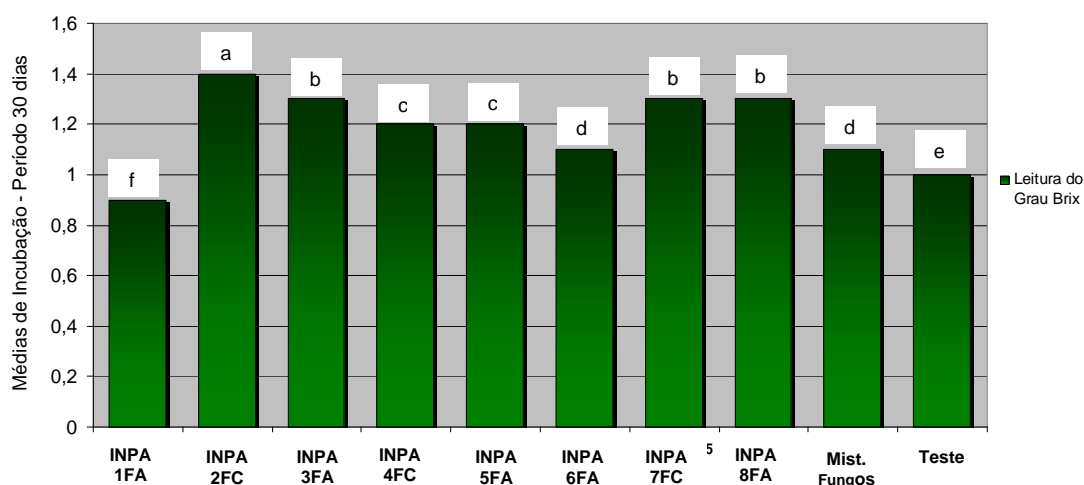


Figura 13: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes modificada de Atlas (1995).

Os demais fungos proporcionaram acúmulos de sólidos solúveis variando de 0,9^o a 1,2^o brix, índices muito próximos do tratamento controle com média 1,0^o brix.

Tabela 12: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes modificada de Atlas (1995).

Fungos	Dias de Incubação				
	03	06	09	20	24
	°Brix				
INPA 1FA	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0
INPA 2FC	1,5	1,2	1,0	1,5	1,8
INPA 3FA	1,2	1,2	1,0	1,5	1,8
INPA 4FC	1,2	1,0	1,0	1,2	1,8
INPA 5FA	1,1	1,2	1,0	1,2	1,8
INPA 6FA	1,0	1,0	1,0	1,2	1,5
INPA 7FC	1,0	1,2	1,0	1,5	1,8
INPA 8FA	1,0	1,0	1,0	1,5	2,0
Mistura Fungos	1,0	1,0	1,0	1,2	1,5
Testemunha	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Ao se analisar os tratamentos com detalhes (Tabela 12), observou-se que os maiores acúmulos de sólidos solúveis ocorreram no final do experimento, aos 24 dias de incubação, com apenas 1,8 e 2,0° brix para os fungos INPA 2FC, INPA 3FA, INPA 4FC, INPA 5FA, INPA 7FC e INPA 8FA. O fungo INPA 6FA e a mistura de todos os fungos proporcionaram acúmulos de 1,5° brix.

Apesar de significativos, seus valores ainda estão muito baixos, sugerindo que algum fator deve estar limitando essa conversão do material vegetal em sólidos solúveis. Como as madeiras e material vegetal têm geralmente relações C/N elevadas, optou-se por acrescentar mais nitrogênio na solução de nutriente utilizada nos experimentos anteriores.

Para isso, a quantidade de sulfato de amônio usada na solução (Tabela 5) foi elevada de 3,3 g para 8,25 g, visando suprir mais nitrogênio para a ação dos microrganismos contra a serragem de assacu e bagaço de cana. Os próximos experimentos foram realizados com esse objetivo e modificação.

4.4 PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SÓLÚVEIS POR FUNGOS USANDO ASSACÚ E CANA-DE-AÇÚCAR E UMA SOLUÇÃO DE NUTRIENTES ENRIQUECIDA COM NITROGÊNIO.

Ao se aumentar a quantidade de sulfato de amônio para 8,25g por litro, observou-se uma elevação substancial de sólidos solúveis nas parcelas experimentais (Figura 14).

Durante o período de incubação de 30 dias, os tratamentos inoculados com os fungos INPA 7FC e INPA 8FA destacaram-se com teores de sólidos solúveis respectivos de 3,5° e 3,4° brix, seguidos pelos inoculados com os fungos INPA 3FA, INPA 5FA e INPA 6FA com médias de aproximadamente 3,0° brix (Figura 14).

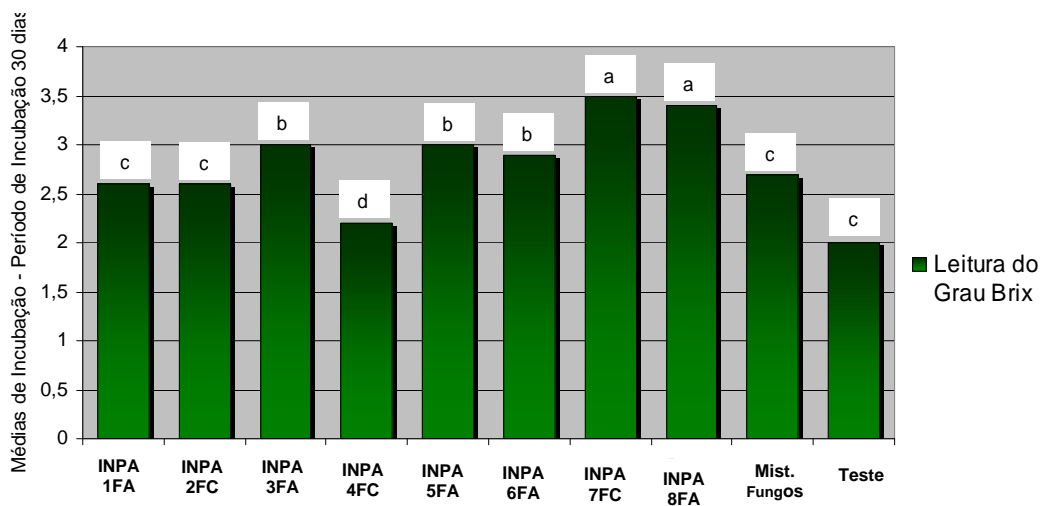


Figura 14: Produção de sólidos solúveis por fungos usando assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

Ao se analisar os dados com mais detalhes (Tabela 14), observou-se que as amostras iniciaram maiores picos de degradação dos sólidos solúveis em torno do décimo dia de incubação.

Os fungos que proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis foram os INPA 7FC e INPA 8FA durante o período do décimo até o vigésimo sétimo dias de incubação, com valores iguais ou superiores a 4,0° brix.

Os demais fungos proporcionaram acúmulos de sólidos solúveis que variaram entre 2,5 e 3,6° brix, enquanto que o tratamento com a mistura dos fungos proporcionou acúmulos de 2,8 a 3,0° brix ao longo do tempo de realização do experimento. É importante frisar que houve uma elevação do grau brix do tratamento testemunha de 1,0 para 2,0 ao se aumentar o teor de sulfato de amônio na solução com nutrientes, o que pode ser observado se compararmos os dados das tabelas 11 e 13, nas quais a única diferença nos tratamentos testemunhas foi a concentração de sulfato de amônio, que subiu de 3,3 g por litro (tabela 11) para 8,25 g por litro (Tabela 13).

Tabela 13: Produção de sólidos solúveis por fungos usando serragem de assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

FUNGOS	DIAS DE INCUBAÇÃO				
	7	10	15	27	31
	° Brix				
INPA 1FA	2,0	3,0	2,0	2,5	3,6
INPA 2FC	2,0	3,0	2,6	2,8	3,0
INPA 3FA	2,0	3,0	3,0	4,0	3,1
INPA 4FC	2,0	3,0	3,0	3,3	3,3
INPA 5FA	2,0	3,3	3,0	3,6	3,1
INPA 6FA	2,0	3,1	3,0	3,6	3,1
INPA 7FC	2,0	4,0	4,3	4,6	3,0
INPA 8FA	2,0	4,0	4,0	4,0	3,0
Mistura fungos	2,0	2,8	2,8	3,0	3,0
Testemunha	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Diferenças significativas também foram observadas entre os tratamentos quando se usou bagaço de cana como fonte de carbono e a

solução de nutrientes contendo 8,25 g de sulfato de amônio por litro (Figura 15).

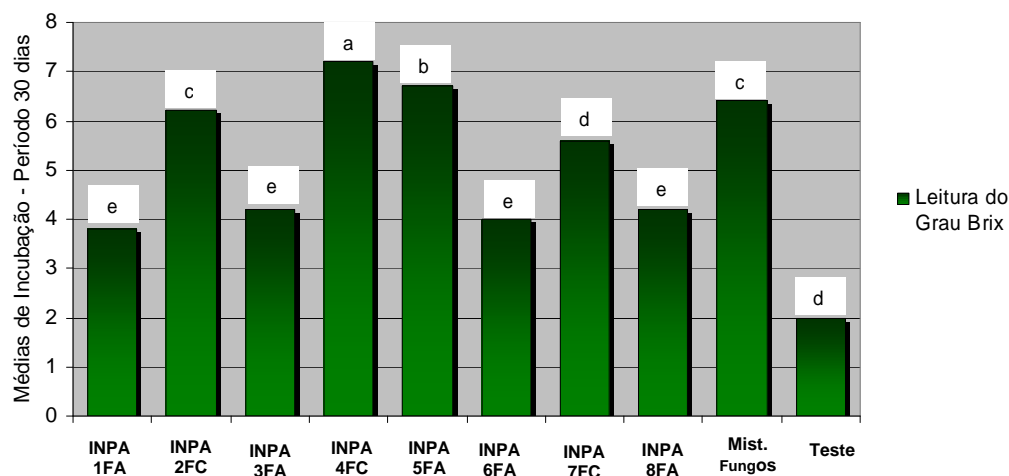


Figura 15: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

Através da leitura do grau brix foi possível observar que o fungo INPA 4FC proporcionou o maior acúmulo de sólidos solúveis, seguido pelo fungo INPA 5FA. Todos os fungos proporcionaram acúmulos significativos em comparação com a testemunha, com o fungo INPA 1FA, com menor acúmulo, apresentando quase o dobro do observado na testemunha.

Uma análise mais detalhada dos dados (Tabela 14) indicou valores altíssimos em alguns tratamentos, superando 10° brix, como pode ser visto com os fungos INPA 2FC e INPA 7FC aos 27 dias de incubação e, INPA 4FC aos 20 dias. Em todos os casos, desde a primeira medição realizada aos 7 dias de incubação os tratamentos com fungos apresentaram acúmulos de sólidos solúveis superiores aos observados no tratamento testemunha.

Tabela 14: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

FUNGOS	Dias de Incubação					
	07	10	15	20	27	31
	°Brix					
INPA 1FA	3,0	3,0	3,5	3,6	4,0	6,0

INPA 2FC	3,0	3,0	8,3	4,6	11,3	7,0
INPA 3FA	3,6	3,0	3,6	3,0	6,6	5,6
INPA 4FC	3,0	3,0	7,0	11,8	9,6	9,3
INPA 5FA	3,0	3,3	9,0	4,0	11,0	10,0
INPA 6FA	2,6	3,0	4,5	3,0	5,6	5,3
INPA 7FC	2,9	3,0	4,0	3,0	11,0	10,0
INPA 8FC	2,6	3,0	6,0	3,0	4,0	6,6
Mistura Fungos	2,8	2,8	10,0	4,0	10,0	9,3
Testemunha	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

4.5 PRODUÇÃO DE SÓLIDOS SÓLVEIS POR BACTÉRIAS USANDO ASSACÚ E CANA-DE-AÇÚCAR E UMA SOLUÇÃO DE NUTRIENTES ENRIQUECIDA COM NITROGÊNIO

Para este experimento foram utilizados pó de serragem de assacu, bactérias e solução de nutrientes contendo 8,25 g de sulfato de amônio por litro.

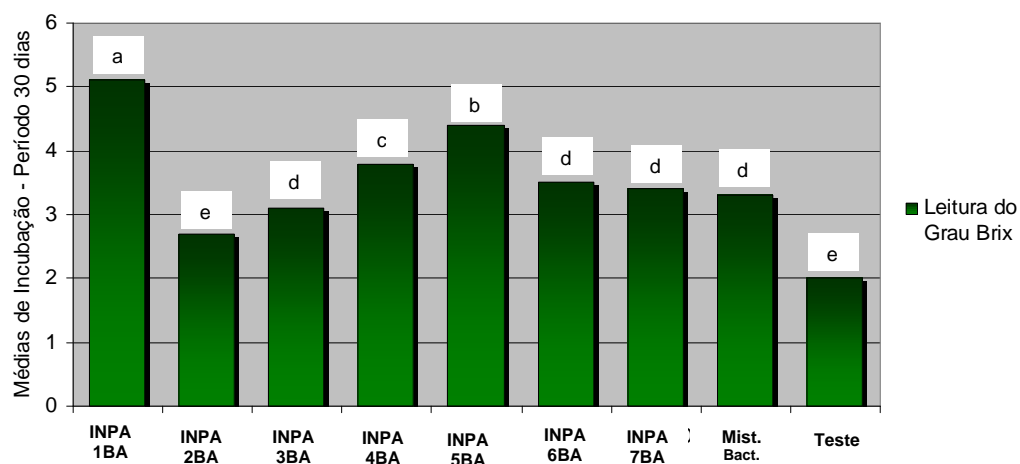


Figura 16: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando serragem de assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

As amostras iniciaram diferença no teor das médias de degradação a partir do sétimo dia. As médias apresentadas para os três primeiros tratamentos destacaram-se em maior degradação de sólidos solúveis pelas bactérias. O tratamento 1A1 destacou-se com média de 5,1^o brix, seguido de 4,4^o brix para o tratamento 10A2 e 3,8^o brix para o tratamento 10A1 (Figura 16).

Nessa situação, também todos os tratamentos em que se usou bactérias proporcionaram acúmulos de sólidos solúveis de forma significativa usando serragem de assacu como fonte de carbono e uma solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio. Todos foram significativamente superiores ao tratamento testemunha (Figura 16), com a bactéria INPA 1BA apresentando-se bem superior às demais, com mais de 5^o brix de sólidos solúveis seguida pela bactéria INPA 5BA com aproximadamente 4,4^o brix.

Pela tabela 15 observa-se que os acúmulos de sólidos solúveis começaram a ocorrer no décimo dia de incubação, mantendo-se relativamente constantes até o final do experimento, aos 24 dias de incubação. As bactérias que mais se sobressaíram ao longo do experimento foram a INPA 5BA, INPA INPA 4BA, seguidas pelas INPA 6BAS e INPA 7BA. Em todos os casos, desde o décimo dia de incubação, os tratamentos com bactérias apresentaram acúmulos de sólidos solúveis superiores aos observados no tratamento testemunha.

Tabela 15: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando serragem de assacu e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

Bactérias	Dias de Incubação				
	7	10	14	21	24
	° Brix				
INPA 1BA	2,0	4,6	4,0	3,0	5,1
INPA 2BA	2,0	2,3	3,3	3,0	3,3
INPA3BA	2,0	2,9	4,3	2,9	3,7
INPA 4BA	2,0	3,6	4,3	4,6	4,7
INPA 5BA	2,0	5,3	5,0	4,3	5,6
INPA 6BA	2,0	4,0	4,0	3,6	4,0
INPA 7BA	2,0	3,5	3,3	3,6	4,7
Mistura Bact.	2,0	3,3	5,3	3,0	3,3
Testemunha	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Ao se utilizar o bagaço de cana como fonte de carbono, observou-se também, acúmulos significativos de sólidos solúveis em comparação com o tratamento testemunha (Figura 17). As que menos acumularam (INPA 2BA, INPA 3BA e INPA 4BA) proporcionaram o dobro de sólidos solúveis apresentados no tratamento testemunha. As que proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis foram as bactérias INPA 5BA, INPA 6BA e o tratamento com a mistura de todas as bactérias, todos com valores de superiores a 5° brix.

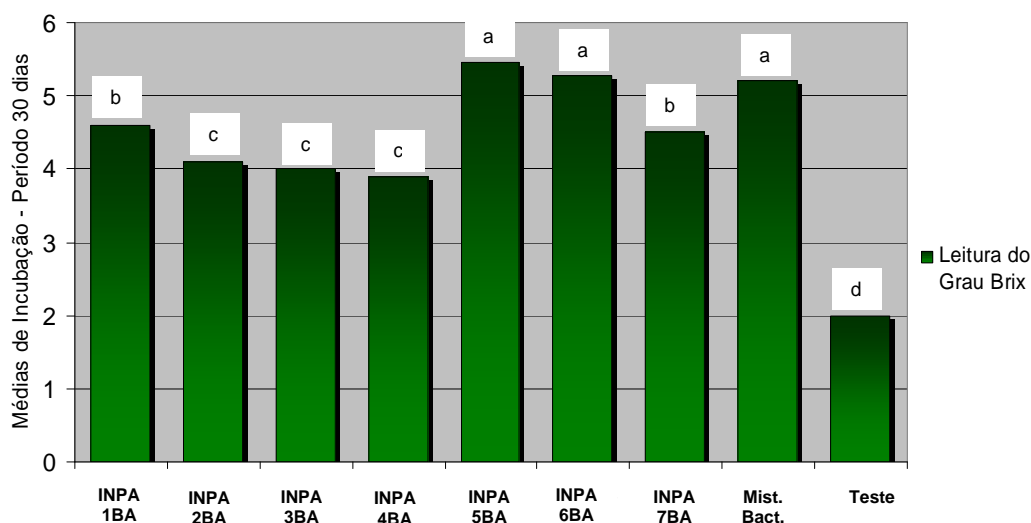


Figura 17: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

Os tratamentos apresentaram médias em torno de 5,4º a 3,9º brix do teor de degradação de sólidos solúveis e através do grau brix foi possível detectar a

Ao se analisar os dados com detalhes ao longo do experimento (Tabela 16), observou-se que os acúmulos de sólidos solúveis ocorreram a partir do décimo dia de incubação, com a bactéria INPA 5BA proporcionando os maiores acúmulos, seguida pelas bactérias INPA 4BA, INPA 1BA e INPA 6BA.

Tabela 16: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio.

Bactérias	Dias de Incubação				
	7	10	14	21	24
	ºBrix				
INPA 1BA	2,0	4,6	4,0	3,0	5,1
INPA 2BA	2,0	2,3	3,3	3,0	3,3
INPA 3BA	2,0	2,9	4,3	2,9	3,7
INPA 4BA	2,0	3,6	4,3	4,6	4,7
INPA 5BA	2,0	5,3	5,0	4,3	5,6
INPA 6BA	2,0	4,0	4,0	3,6	4,0
INPA 7BA	2,0	3,5	3,3	3,6	4,7
Mistura Bact.	2,0	3,3	5,3	3,0	3,3
Testemunha	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Os maiores acúmulos foram observados ao final do experimento, aos 24 dias de incubação.

4.6 AVALIAÇÃO DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DOS SÓLIDOS SÓLVEIS POR BACTÉRIAS E FUNGOS USANDO BAGAÇO DE CANA COMO FONTE DE CARBONO

As serem comparadas as ações microbianas das bactérias em temperatura de laboratório a 26°C e temperatura de estufa a 39°C, observou-se que o acúmulo de sólidos solúveis foi maior na temperatura mais elevada, sugerindo metabolismo mais acelerado dessas bactérias (Figura 18). Todas as bactérias testadas apresentaram esse comportamento, com a INPA 7BA sendo mais produtiva na alta temperatura, seguida pela INPA 1BA. O acúmulo de sólidos solúveis na temperatura mais baixa foi semelhante para as três bactérias.

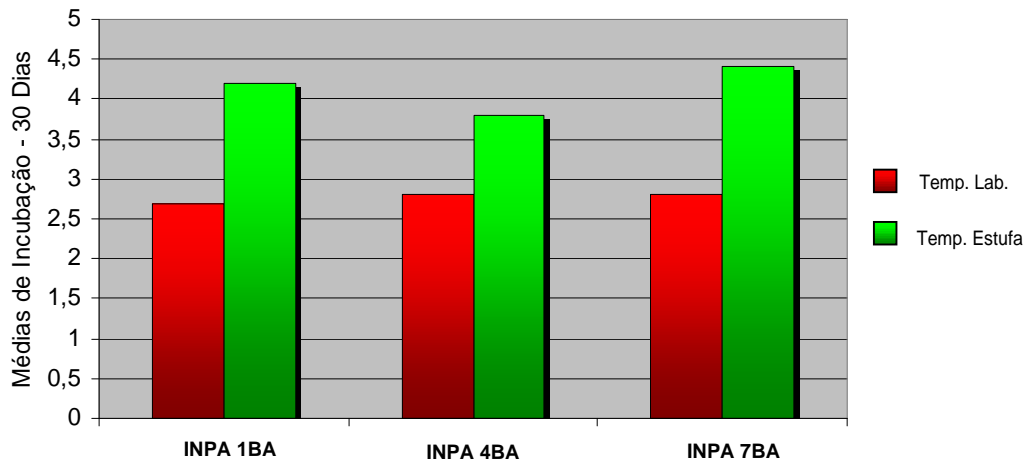


Figura 18: Produção de sólidos solúveis por bactérias usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio. Temperaturas de laboratório a 26°C e de estufa a 39°C.

Ao serem comparadas as ações metabólicas dos fungos (Figura 19), os resultados também foram bastante semelhantes aos observados com as bactérias, uma vez que sob altas temperaturas, o acúmulo de sólidos solúveis foi maior para todos eles. Ao contrário das bactérias, o comportamento dos fungos foi muito semelhante, não se observando, de forma significativa, a predominância de algum deles em relação aos demais em ambas as temperaturas.

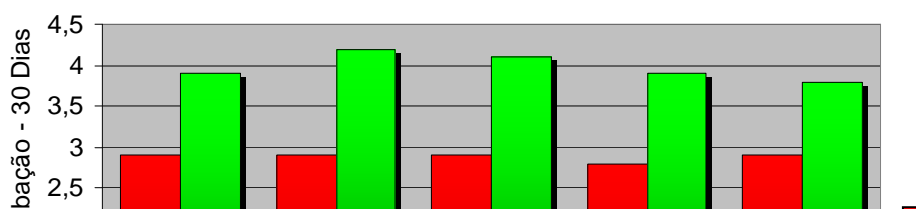


Figura 19: Produção de sólidos solúveis por fungos usando bagaço de cana e solução de nutrientes enriquecida com nitrogênio. Temperaturas de laboratório a 26°C e de estufa a 39°C.

Ao se analisar os dados em detalhes sob a temperatura de 26° C (Tabela 17), foi possível observar que tanto as bactérias como os fungos em condições de temperatura de laboratório a 26°C apresentaram diferença nos resultados, apresentando médias em torno de 2,7° a 2,9° brix quando comparadas ao tratamento testemunha com média de 2,0° brix. Destaca-se que no preparo do tratamento testemunha, foi utilizado apenas bagaço de cana-de-açúcar e solução de nutrientes, enquanto que nos tratamentos acima mencionados, foram acrescidos fungos e bactérias.

Tabela 17: Produção de sólidos solúveis por bactérias e fungos usando bagaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono. Temperatura de 26°C.

Bactérias	Dias de Incubação							Média
	03	06	09	14	17	21	28	
	°Brix							
INPA 1BA	3,0	3,0	2,8	2,5	2,5	2,7	2,9	2,7
INPA 4BA	3,0	3,0	3,0	2,6	2,6	2,9	3,0	2,8
INPA 7BA	3,0	3,0	3,0	2,7	2,6	2,8	3,0	2,8
INPA 6BA	3,0	3,0	3,0	2,8	2,8	2,9	3,0	2,9
Fungos								
INPA 2FC	3,0	3,0	3,0	2,9	2,8	3,0	3,0	2,9
INPA 4FC	3,0	3,0	3,0	3,0	2,8	2,8	3,0	2,9
INPA 5FA	3,0	3,0	3,0	2,8	2,9	3,0	3,0	2,9
TC10F	3,0	3,0	3,0	2,6	2,6	2,8	3,0	2,8

Testemunha	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
-------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------------

Ao serem analisadas as amostras durante o período de incubação de bactérias e fungos em temperatura de estufa a 39°C, foi possível observar que a bactéria INPA 7BA destacou-se com média de 4,4° brix, apresentando ao longo do experimento, valores entre 3,6 e 6,0° brix, com o maior valor (6,0° brix) ocorrendo aos 28 dias de incubação. Quanto aos fungos, os resultados foram semelhantes aos observados com as bactérias, mas sem que algum se sobressaia em relação aos demais conforme já apresentado na figura 18.

Tabela 18: Produção de sólidos solúveis por bactérias e fungos usando bagaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono. Temperatura de 39°C.

Bactérias	Dias de Incubação							Média
	03	06	09	14	17	21	28	
	°Brix							
INPA 1BA	4,3	4,0	3,1	3,5	4,0	4,9	6,0	4,2
INPA 4BA	3,8	4,0	3,0	3,1	3,4	4,3	5,3	3,8
INPA 7BA	4,0	5,0	3,6	3,8	4,0	4,6	6,0	4,4
INPA 6BA	3,0	4,7	3,1	3,3	3,6	4,0	5,0	3,8
Fungos								
INPA 2FC	4,0	3,6	3,3	3,5	3,6	4,9	5,0	3,9
INPA 4FC	5,3	4,1	3,5	3,6	4,3	4,9	6,0	4,2
INPA 5FA	4,8	4,5	3,1	3,6	4,0	4,3	5,0	4,1
TC10F	4,3	4,0	3,1	3,3	3,6	4,6	5,0	3,9
Testemunha	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

No entanto, como mostrado nas figuras 17 e 18, os acúmulos de sólidos solúveis foram bem mais elevados à temperatura de 39°C, conforme pode ser observado olhando-se os dados dessas duas últimas tabelas (Tabelas 17 e 18). Isso demonstra que as amostras em altas temperaturas tiveram seu metabolismo aumentado. Conseqüentemente houve maior degradação do material vegetal e maior produção de enzimas ou então as enzimas produzidas estão trabalhando com mais eficiência em temperaturas mais elevadas.

A intensidade de decomposição da matéria orgânica do solo está diretamente relacionada à variação de temperatura. Entre 5°C-30°C (Baixa taxa de decomposição) as perdas de matéria orgânica são pequenas e uma tendência de se tornarem resíduos ricos em Nitrogênio. Nas temperaturas elevadas entre 45°C-70°C, a intensidade de decomposição também diminui, assim como a atividade microbiana; alterando o sentido que se processa a decomposição da matéria orgânica, em relação aos produtos finais dessa atividade (FELSK; AKKERMANS, 1998).

CONCLUSÕES

- Houve diferenças entre as microbiotas dos solos em produzirem sólidos solúveis usando serragem de assacu e bagaço de cana-de-açúcar moído como fontes de carbono.
- As microbiotas dos solos de urucu proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis que as dos solos dos campus do INPA.
- Houve diferenças significativas entre os fungos e entre as bactérias isolados desses solos quanto ao acúmulo de sólidos solúveis usando esses dois materiais vegetais como fontes de carbono.

- Aumentando a quantidade de nitrogênio no meio resultou em maiores acúmulos de sólidos solúveis.
- Houve maiores acúmulos de sólidos solúveis à temperatura de incubação de 39° C quando comparado com 26° C.
- Entre os fungos, os que proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis foram os identificados como INPA 4FC, INPA 5FA, INPA 7FC e INPA 8FA.
- Entre as bactérias, as que proporcionaram maiores acúmulos de sólidos solúveis foram as identificadas como INPA 1BA, INPA 5BA e INPA 6BA.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, E.F. **The performance of Brazilian biofuels: an economic, environmental and social analysis**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Economia. Rio de Janeiro: 2007.

ALVAREZ V., V.H.; NOVAIS, R.F.; DIAS, L.E. & OLIVEIRA, J.A. Determinação e uso do fósforo remanescente. B. Inf. SBCS, 25:27-32, 1995.

ALLINGER, N.L; YUH, Y. H. & LII, J. H. **Química orgânica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 2002.

ALLISON, V.J., CONDRON, L.M., PELTZER, D.A., RICHARDSON, S.J., TURNER, B.L. **Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence**. New Zealand. Soil Biology & Biochemistry, v. 39, p. 1770 - 1781. 2007.

ARON, N.; PAKULA, T.; PENTILLA, M. **“Transcriptional regulation of plant cell wall Biotechnology”**. n. 63. New York: 2004.

BARRICHELO, L.E.G. & BRITTO, J.O. - Química da Madeira - **Manual Didático** - Centro Acadêmico “Luiz de Queiróz”. USP – Piracicaba: 1985.

BONONI, V. L. R. **Biodegradação de organoclorados no solo por basidiomicetos lignocelulósicos**. p. 243-268. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1999.

BUCHER, V.V., POINTING, S.B., HYDE, K.D., REDDY, C.A. **“Production of wood decay enzymes, loss of mass, and lignin solubilization in wood by diverse tropical freshwater fungi”**. Microb Ecol. (3):331-337, (2004).

CAMPOS, B.C.; HUNGRIA, M. & TEDESCO, V. Eficiência da fixação biológica de N₂ por estirpes de Bradyrhizobium no solo em plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.25, n.3, p.583-592, 2001.

CASTRO e SILVA, **Influência da anatomia e química nas propriedades da madeira**. Manaus: Publicação CEFET/UTAM. 1996.

CAMARGO, C. A. Perfil do setor. In: **Conservação de energia na indústria do açúcar e do álcool: manual de recomendação**. IPT: São Paulo: 1990

CONN, E. E.; STUMPF, P. K. **Introdução a bioquímica**. 4 ed. Tradução de J. R. Magalhães; L. Mennucci. São Paulo: Edgard Blücher, 1980.

D'ALMEIDA, M.L.O. "**Composição Química dos Materiais**" em **Celulose e Papel – Tecnologia da Fabricação de pasta Celulósica**. Vol. 1. Ed. IPT. São Paulo, 1982. p. 42-54.

DEGENS, B.P.; HARRIS, J.A. Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, v. 29, p. 1309 -1320, 1997

EMBRAPA. Centro Nacional e Pesquisa em Solos. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos e Espécies**. Brasília: Embrapa-SPI: Rio de Janeiro: Embrapa-Solos, 2006.

FELSK, A. AKKERMANS, D.L. Spatial Homogeneity of abundant bacterial 16S rRNA in grassland soils. *Microbiology Ecology*. New York. v. 36. 1998.

FENGEL, D. e WEGENER, G. in *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. **Water de Gruyter**, Berlin pp 66-75. 1989.

FURTADO, A. T. **O sistema de inovação da agroindústria canavieira brasileira**. Apresentado no "VI Congresso Brasileiro de Planejamento Energético", Salvador, maio de 2008.

GACESA, P.; HUBBLE, J. The enzymatic treatment of waste materials. In: MARTIN, A. M. (Ed.) **Bioconversion of waste materials to industrial products**. London: Elsevier Applied Science, 1991.

GOLDSTEIN, I. S. (1976) Chemicals from Lignocellulose. *Biotechnol. and Bioenginn. Symposium*. v. 6, p. 293-301.

HARBONE, J.B. & BAXTER, H. **Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants**. Taylor & Francis: London, 1995.

HOLTZ, G.P & SÁ, J.C. Resíduos culturais: reciclagem de nutrientes e impacto na fertilidade do solo. In: Curso sobre manejo do solo no sistema de plantio direto. Anais. Fundação ABC, Castro, Paraná. p.21-36, 1995.

HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ANDRADE, D. S. **Fixação biológica do nitrogênio em leguminosas de grãos**. Lavras: p. 597 - 620 v, p. 597, 1997.

IPT. **Celulose e Papel**. Tecnologia de fabricação da pasta celulósica. v. 1. 2 ed. São Paulo: IPT, 1988.

KENNEDY, A.C.; SMITH, K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. **Plant and Soil**, v.170, p.75-86, 1995.

KIRK, T. K; FARRELL, R.L. Enzymatic “**combustion**”: **The microbial degradation of lignin**. p. 465-505. Ann. Rev. Microbiol. n. 41. 1987.

LANDELL, M. “ProCana – O Programa Cana-de-Açúcar do Instituto Agrônômico”. **O Agrônômico**, Campinas, v. 55 (1), 2003.

LARSON, W. E.; PIERCE, F. J. The dynamics of soil quality as a measure of sustainable management. In: DORAN, J.W.; COLEMAN, D. C.; BEZDICEK, D. F.; STEWART, B. A. (Org.) **Defining soil quality for a sustainable environment**. Madison: SSSA, 1994. p. 37-51.

LEHNINGER, A. L; NELSON, D. L; COX, M. M. Princípios de bioquímica. 2.ed. São Paulo: Savier, 2002.

LEPAGE, E. S. I.; 1986. **Manual de Preservação de Madeiras**. Vol. I. São Paulo: IPT, 1986.

LIMA , V. A. Et al. **Processos fermentativos e enzimáticos**. (Série Biotecnologia Industrial, 03). São Paulo: Edgard Blucher, p.593, 2001.

- LORA, E. S. “**Thermodynamics limits for the production of ethanol and electricity from sugarcane**”. *Zuckerindustrie*, v. 131 (11), 2006.
- NANNIPIERI, P.; JOHNSON, R.L.; PAUL, E.A. Criteria for measurement of microbial growth and activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Oxford, v.10, p.223-229, 1978.
- ÖNNERUD, H., ZHANG, L., GELLERSTEDT, G. & HENRIKSSON, G. **Polymerization of Monolignols by Redox Shuttle–Mediated Enzymatic**. In: *Annals of Botany*. 673-695p. May 1, 2002.
- PAUL, E. A.; CLARK, F. E. **Soil Microbiology and Biochemistry**. New York. Academic Press, 1989.
- PANSHIN, A & J.; DE ZEEUW, C. **Textbook of wood technology**. 4 ed. 722 p. New York: Mc Graw Hill, 1980.
- PAOLETTI, M.G. & BRESSAN, M. **Soil invertebrates as bioindicators of human disturbance**. *Critical Review in Plant Sciences*, v.15, p.21-62, 1996.
- PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E.C.S. **Microbiologia**. v. II. Trad. PEREIRA, M.A.M. Mcgraw-Hill do Brasil, 1981.
- PRIMAVESI, A. **Manejo Ecológico do Solo**. Nobel, São Paulo: 2002.
- PRYCHID, C.J. & RUDALL, P.J. Calcium oxalate crystals in Monocotyledons: a review of their structure and systematic. **Annals of Botany 84**: 725-739. 1990.
- SCHVARTSMAN, S. **Plantas Venenosas**. Sarvier, São Paulo, 1979.
- SIMÕES, T; QUEIRÓS, M; SIMÕES, M. – *Técnicas Laboratoriais de Química – Bloco II*, Porto, 1.^a ed., Porto Editora, 2001.

SMITH, J.L.; PAUL, E.A. The significance of soil microbiol biomass estimations. In: BOLLAG, J. M.; STOTSKY, G. **Soil Biochemistry**. V. 6. New York: Marcel Dekker, 1990.

SOARES, C. H. L. **Estudos Mecanísticos da Degradação de Efluentes de Indústrias de Papel e Celulose por Fungos Basidiomicetos Degradadores de Madeira**. Tese (Doutorado em Engenharia). Universidade Estadual de Campinas – SP, 1998.

SOLOMONS, G. T. W.; FRYHLE, C. B.; **Química Orgânica**. ed. LTC, 7a. edição, **2002**.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 8.ed. São Paulo: Artmed, 2005.

WHITMAN, W.B.; COLEMAN, D.C.; WIEBE, W.J. Prokaryotes: the unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.**, v.95, p.6578-6583, 1998.

WUBAH, D., AKIN, D., BORNEMAN, W. (1993) Biology, Fiber-Degradation and Enzymology of Anaerobic Zoosporic Fungi. *Critical Rev. Microbial.*, v. 19, p. 99-115.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.