

FUNGOS TERMÓFILOS EM PILHAS DE CAVACOS DE *Eucalyptus* SPP COM AUTO-AQUECIMENTO¹

CELSO GARCIA AUER

Fundação de Ensino e Tecnologia de Alfenas
Departamento de Engenharia Florestal
37130 - Alfenas - MG

TASSO LEO KRUGNER

ESALQ/USP, Departamento de Fitopatologia
13400 - Piracicaba - SP

LUIZ E. G. BARRICHELO

ESALQ/USP, Departamento de Ciências Florestais
13400 - Piracicaba - SP

ABSTRACT - The isolation of thermophilous fungi from self-heated chip piles of eucalypt wood, with monthly average temperature over 50°C in inner points, indicated the occurrence of **Aspergillus** sp., **Dactylomyces thermophilus**, **Penicillium bacillisporum**, **Rhizomucor** sp., **Sporotrichum** sp. and **Thermoascus aurantiacus**. With the exception of *O. thermophilus*, a 11 fungi isolated from the pile were also isolated from soil of eucalypt stands, from the air near the pile, from the mill waste used for round wood washing and from water of the lagoon of effluent treatment. The observed frequency of each thermophilous fungus isolated from chips did not show any distributional pattern and variation in the number of species, with respect to sampling points and storage time. Fungal frequencies were modified when chips were surface sterilized before isolation.

RESUMO - O isolamento de fungos termófilos de pilhas de cavacos de eucalipto apresentando auto-aquecimento, com valores médios mensais ultrapassando 50°C nos pontos mais internos, mostrou a ocorrência de **Aspergillus** sp., **Dactylomyces thermophilus**, **Penicillium bacillisporum**, **Rhizomucor** sp., **Sporotrichum** sp. e **Thermoascus aurantiacus**. Com exceção de *O. thermophilus*, todos os outros fungos foram também detectados em solo de talhões florestais de eucalipto, no ar próximo à pilha de cavacos, na água utilizada para lavagem das toras e na lagoa de tratamento de efluentes. Não houve variação nas frequências observadas dos fungos isolados de cavacos, e no número de espécies encontradas, entre os pontos de coleta de cavacos e durante o período de armazenamento. Entretanto, houve variação na frequência de fungos isolados entre cavacos esterilizados e não esterilizados superficialmente.

¹ Parte da Dissertação de Mestrado apresentada à ESALQ/USP pelo primeiro autor.

INTRODUÇÃO

O gênero **Eucalyptus** tem sido utilizado como fonte principal de fibras curtas para a produção de celulose e papel, a partir de florestas de crescimento rápido e ciclo curto de rotação. Normalmente, a madeira originada destas condições de cultivo apresenta grande quantidade de alburno e baixa resistência contra microrganismos apodrecedores (COWLING et alii, 1974). Aliado a isto, a estocagem da madeira na forma de cavacos ao ar livre propicia o desenvolvimento de fungos degradadores ou não de madeira. Estes fatos ajudam a explicar a presença de auto-aquecimento em pilhas de cavacos de madeira recém-cortada com alto teor de umidade. Células do alburno ainda vivas, microrganismos degradadores de compostos celulares armazenados e reações de auto-oxidação causam o aquecimento durante o período inicial de estocagem (ESLYN, 1973).

As condições de temperatura criadas favorecem a sucessão microbiana e o surgimento de populações de fungos termófilos sobre os cavacos. Diferentes faixas de temperatura no interior da pilha são o resultado da variação nas condições do ambiente externo, umidade dos cavacos, tipo e número de populações de fungos associados (ZOCH et alii, 1976). A sensibilidade da temperatura da pilha às mudanças do ambiente, principalmente à precipitação pluviométrica, é fácil de ser detectada devido aos efeitos sobre a quantidade de calor existente (KUBLER, 1982b). A precipitação contribui para a manutenção da umidade necessária à sobrevivência dos fungos (ASSARSSON, 1969) e diretamente para a perda de calor pela intensificação do fenômeno denominado "efeito chaminé", no qual uma corrente de ar úmido e quente atravessa a pilha no sentido da base para o topo da pilha (KUBLER, 1982a).

A ocorrência de auto-aquecimento tem sido constatada em pilhas de cavacos de eucalipto, em Mogi Guaçu, SP. Estas pilhas apresentavam temperatura interna acima da encontrada no ambiente, ultrapassando por vezes a 60°C, durante vários meses. Assim, os objetivos deste trabalho foram registrar o auto-aquecimento da pilha e detectar, identificar e determinar a frequência dos fungos termófilos presentes nesta pilha.

MATERIAL E MÉTODOS

A pilha de cavacos de madeira de eucalipto foi montada no pátio da fábrica da Champion Papel e Celulose Ltda., em Mogi Guaçu, SP, segundo metodologia da própria empresa. Começou a ser construída em 09.06.84 e completada a 15.06.84, apresentando um volume estimado entre 25.000 a 30.000 m³. Foi mantida intacta até fim de outubro de 1984 e totalmente consumida em 05.11.84. A pilha era composta de uma mistura de cavacos de **Eucalyptus grandis**, **E. saligna** e **E. urophylla**, principalmente. As toras de eucalipto foram lavadas com águas servidas da fábrica, descascadas, picadas e os cavacos transportados por esteira até o pátio de armazenamento, onde se situava a pilha.

Para a coleta de cavacos e a medição das temperaturas internas, foram escolhidos e marcados pontos para amostragem durante a montagem da pilha. A determinação de temperaturas foi feita pelo uso de termopares de ferro-constantan ligados a um registrador digital de temperatura, com leitura das temperaturas em quatro pontos da pilha e do ambiente externo efetuadas pela manhã (Figura 1). A precipitação pluviométrica mensal foi medida com um pluviômetro localizado na fábrica. O monitoramento da pilha para a obtenção dos valores de temperatura e coleta de cavacos foi efetuado em um setor da pilha.

Os coletores de cavacos eram recipientes construídos com tela de ferro e chapa de aço em formato cilíndrico, com a parte anterior aguda possuindo uma argola para seu tracionamento fora da pilha e na parte posterior um tampo parafusado, para colocação e retirada dos cavacos. Sois coletores foram preenchidos com cavacos recém-picados e colocados no interior da pilha, sendo retirados durante a amostragem. O modelo do coletor foi delineado com base em estudos relacionados com estocagem de cavacos ao ar livre (BJORKMAN & HAEGER, 1963; TANSEY, 1971 e SMITH & OFOSU-ASTEDU, 1972). Os cavacos coletados foram acondicionados em sacos plásticos e despachados, logo em seguida, para o laboratório.

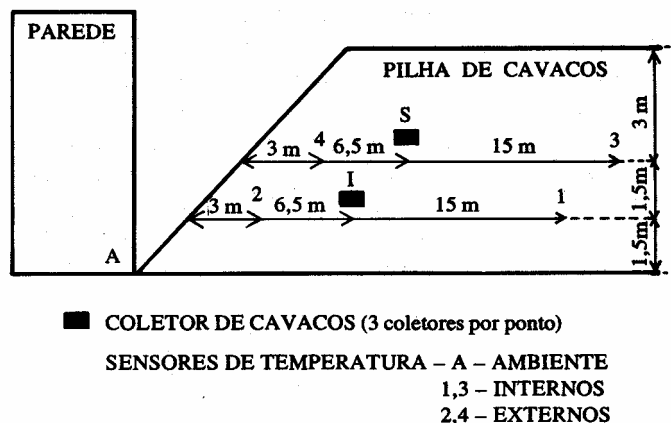


Figura 1 - Disposição dos coletores de cavacos e sensores de temperatura na pilha de cavacos de *Eucalyptus*.

O isolamento foi feito a partir de cavacos retirados aos 34, 64, 95 e 149 dias de armazenamento. Foram homogeneizados e separados 100 cavacos, ao acaso, por ponto de coleta. Utilizou-se a técnica de implantação de fragmentos de tecidos internos de cavacos esterilizados ou não em meio de cultura. A esterilização dos cavacos constou da flambagem do cavaco com álcool. Os fragmentos apresentavam dimensões em torno de 2-3 mm de espessura e largura, com 8-10 mm de comprimento. De cada um dos cavacos retirou-se um fragmento, sendo distribuídos quatro fragmentos por placa de Petri contendo meio BOA (extrato de 200g de batata; dextrose, 20g; ágar em fita, 18g e água destilada q.s.p. 1000 ml).

Para se detectar a provável fonte de inóculo dos fungos termófilos, foram analisados solos de talhões de eucalipto, o ar próximo à pilha de cavacos, as águas utilizadas para a lavagem das toras e da lagoa de tratamento de efluentes, esta última bem próxima da pilha.

Amostras de solo foram coletadas através da raspagem de uma camada de 2 a 3 cm da superfície, em vários pontos do talhão, acondicionadas em sacos plásticos e enviadas para análise. A metodologia de GOCHENAUR (1975) foi utilizada para o plaqueamento de solo e observação das populações de fungos termófilos presentes. Colocou-se 1 g de solo em placa de Petri estéril juntamente com 1 ml de água destilada estéril e sobre esta mistura foram vertidos 25 ml de meio de Martin (peptona comercial, 15g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5g; K_2HPO_4 , 1 g; rosa bengala, 0,035g; sulfato de estreptomicina, 1:10.000; dextrose, 10g; ágar em fita, 20g e água destilada q.s.p. 1000ml), fundente (40-45°C). Foram amostrados quatro

talhões comerciais formados por eucalipto em Mogi Guaçu, SP, e cinco talhões em São Simão, SP, sendo feitos três plaqueamentos de solo por talhão.

A coleta dos esporos presentes no ar, em pontos próximos da pilha de cavacos, foi feita pela exposição de placas de Petri, com meio de Martin, por 10 minutos (SANDHU & SINGH, 1985). Amostras de 1000 ml foram retiradas da rede de água para lavagem de toras e da lagoa de tratamentos de efluentes, e de cada amostra retiraram-se alíquotas de 1 ml que foram transferidas para placas de Petri com meio de Martin.

As placas foram incubadas por 72 horas em estufas controladas a 50°C. Após este período foi determinada a frequência dos fungos isolados de cavacos e feita uma avaliação qualitativa dos fungos presentes nas outras amostras analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de temperatura dos pontos internos da pilha mantiveram-se mais elevados, variando de 34 a 60°C (sensor 1) e 34 a 63°C (sensor 3), do que os encontrados nos pontos externos, que variaram de 16 a 52°C (sensor 2) e 23 a 56°C (sensor 4). Com o decorrer do tempo, as temperaturas dos pontos externos tornaram-se mais baixas que a faixa de 20-44°C observada no ambiente. Notou-se que a variação geral nos valores das temperaturas da pilha acompanhou a variação da temperatura do ambiente. A análise dos valores médios mensais de temperatura e precipitação pluviométrica mensal mostrou uma distinta diminuição da temperatura, mais pronunciada nos pontos externos, com o aumento da precipitação. Com a diminuição da precipitação, houve nova elevação nos valores de temperatura da pilha (Figuras 2 e 3). Estas observações concordam com os modelos propostos por KUBLER (1982b), que relacionam fatores climáticos do ambiente, principalmente a precipitação, com as variações térmicas dentro da pilha de cavacos.

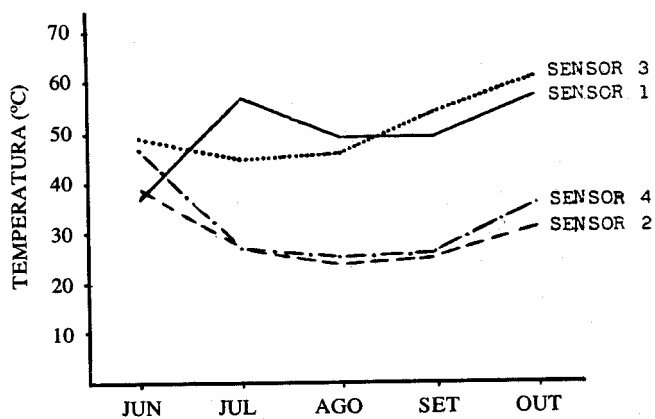


FIGURA 2: Temperaturas médias mensais (°C) durante o período de amostragem, da pilha de cavacos (junho a outubro/84).

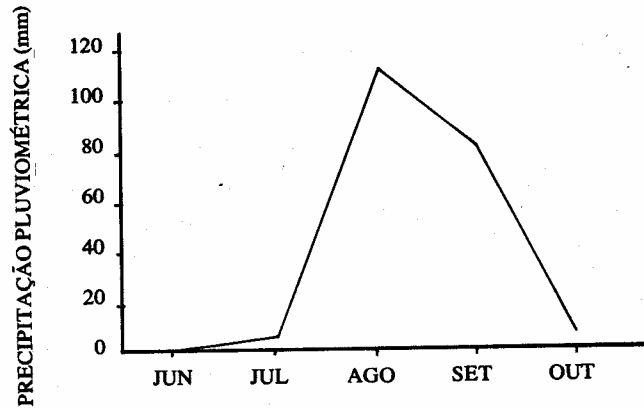


FIGURA 3: Precipitação pluviométrica mensal (mm) em Mogi Guaçu, SP, no período de junho a outubro/1984.

Com base nos isolamentos efetuados foram observados seis gêneros de fungos, com três espécies identificadas, o que é um número restrito se comparado com o número de fungos isolados por BERGMAN et alii (1970) e TANSEY (1971). **Aspergillus** e **Sporotrichum** foram os mais freqüentes porém, tal como os outros fungos, não apresentaram um padrão definido de distribuição durante o período de estocagem. Segundo SMITH & OFOSU-ASIEDU (1972), a freqüência dos fungos na pilha é afetada pela temperatura e período de armazenamento e isto explicaria os resultados encontrados (Tabelas 1 e 2). Por outro lado, a esterilização externa dos cavacos modificou a freqüência de isolamento dos fungos, como por exemplo o aumento da freqüência de **Thermoascus aurantiacus**. Este resultado revela a ocorrência de antagonismo entre os fungos termófilos, discutido por JODICE et alii- (1974), e variação na capacidade de penetração da madeira.

A camada superficial do solo de talhões de eucalipto mostrou ser uma fonte de inóculo potencial, tal como foi discutido por WARD & COWLEY (1972) e TANSEY & JACK (1976). **Aspergillus** e **Penicillium** foram os fungos mais freqüentes e foram isolados de solo, ar e águas servidas da fábrica, enquanto que *Dactylomyces* não foi encontrado (Tabela 3). A coleta de esporos do ar apresentou somente quatro dos fungos termófilos isolados de cavacos, os quais também foram encontrados em estudos de dispersão aérea de fungos termófilos (EVANS, 1972; HUDSON, 1973; SANDHU & SINGH, 1985 e UPSHER, 1985). A detecção de termófilos nas águas servidas da fábrica poderia ser conseqüência da temperatura da água, situada na faixa entre 30-40°C, suficiente para acondicionar seu crescimento e reprodução (ELLIS, 1980). Com estes aspectos, a inoculação da madeira poderia ocorrer durante as operações de exploração florestal, durante a lavagem das toras ou pela contaminação por esporos trazidos pelo ar e pelo vapor úmido resultante da ação dos aeradores da lagoa de tratamento de efluentes.

TABELA 1: Frequência (%) de fungos termófilos em pontos internos da pilha de cavaco de *Eucalyptus*, durante o armazenamento, isolados de cavacos não flambados e incubados em BDA por 72 h a 50°C.

Fungos	Ponto de coleta na pilha *	Período de armazenamento (dia)				Média
		34	64	95	149	
Aspergillus sp.	I	78	96	100	100	93,5
	S	96	100	84	0	70,0
Dactylomyces thermophilus	I	5	0	1	0	1,5
	S	7	0	47	0	13,5
Penicillium bacillisporum	I	45	1	1	4	12,8
	S	99	2	7	97	51,3
Rhizomucor sp.	I	39	22	1	6	17,0
	S	54	5	2	0	15,3
Sporotrichum sp.	I	11	34	82	21	37,0
	S	49	81	94	0	56,0
Thermoascus aurantiacus	I	6	0	0	0	1,5
	S	0	0	3	4	1,8

* de acordo com o esquema da Figura 1.

TABELA 2: Frequência (%) de fungos termófilos em pontos internos da pilha de cavacos de *Eucalyptus*, durante o armazenamento, isolados de cavacos flambados e incubados em BDA por 72h a 50°C.

Fungos	Ponto de coleta na pilha *	Período de armazenamento (dia)				Média
		34	64	95	149	
Aspergillus sp.	I	48	35	31	30	36,0
	S	19	6	2	2	7,3
Dactylomyces thermophilus	I	0	0	4	5	2,3
	S	6	0	41	0	11,8
Penicillium bacillisporum	I	3	0	23	25	12,8
	S	53	1	27	30	27,8
Rhizomucor sp.	I	1	1	0	0	0,5
	S	2	0	0	0	0,5
Sporotrichum sp.	I	34	12	41	24	27,8
	S	15	14	37	1	24,3
Thermoascus aurantiacus	I	44	0	9	52	26,3
	S	2	0	20	35	14,3

* de acordo com o esquema da Figura 1.

TABELA 3: Relação de fungos termófilos isolados de cavacos e detectados em solos de talhões florestais, no ar e em dois reservatórios de águas servidas da fábrica.

Fungos	Talhão*		Reservatório**		Coleta aérea
	A	B	1	2	
Aspergillus sp.	2	4	+	+	+
Penicillium bacillisporum	2	3	+	+	+
Rhizomucor sp.	2	1	-	+	-
Sporotrichum sp.	-	1	-	+	-
Thermoascus aurantiacus	2	3	-	-	-

* Os números representam a quantidade de talhões onde o fungo foi detectado.

A - região de Mogi Guaçu

B - região de São Simão

** 1 - água para lavagens de toras

2 - lagoa de tratamento de efluentes

+: presente

-: ausente

O trabalho de pesquisa desenvolvido foi o primeiro que relacionou o fenômeno da termogênese em pilha de cavacos de eucalipto com a presença de fungos termófilos no Brasil. Estudos iniciais com cavacos de eucalipto desenvolvidos por CARVALHO et alii (1966) não constataram auto-aquecimento na pilha e relacionaram, apenas, fungos de caráter mesofílico. A ocorrência de microrganismos em pilhas de cavacos parece não ser preocupante quando a população presente é termofílica, pois a maioria dos fungos associados não é celulolítica dentro do primeiro ano de armazenamento (BJORKMAN & HAEGER, 1963 e FOELKEL & ZVINAKEVICIUS, 1979). Os principais componentes que são atacados por este grupo de fungos parecem ser as substâncias solúveis da madeira, principalmente carboidratos, que compõem os extrativos de madeira (AUER et alii, 1986). Torna-se necessária a continuação dos estudos com fungos termófilos, isolados de madeira, para determinar o tipo de ação degradativa e sua consequência para a fabricação da celulose. Sabe-se que esta degradação pode ser benéfica, pois a retirada de extrativos promove aumento no rendimento em celulose produzida, pelo menor consumo de álcalis.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1. A pilha de cavacos de eucalipto apresentou auto-aquecimento com valores acima de SOQC nos pontos mais internos, a partir das três primeiras semanas de armazenamento, e mantendo-se mais elevadas que a temperatura do ambiente até o final do período de estocagem.
2. Os fungos isolados foram identificados como **Aspergillus** sp., **Dactylomyces thermophilus**, **Penicillium bacillisporum**, **Rhizomucor** sp., **Sporotrichum** ep. e **Thermoascus aurantiacus**.

3. As frequências observadas para cada fungo não apresentaram um padrão definido de distribuição, em função dos pontos amostrados durante o período de armazenamento.
4. Os mesmos fungos isolados de cavacos, com exceção de **D. thermophilus**, foram detectados em solos de florestas de eucalipto, no ar e em águas para lavagem de toras e da lagoa de tratamento de efluentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam seus agradecimentos aos pesquisadores da Seção de Micologia do Instituto de Botânica-SP pelo auxílio prestado na identificação dos fungos, à Champion Papel e Celulose Ltda. pelas facilidades oferecidas para o desenvolvimento dos trabalhos na fábrica, à FAPESP pela bolsa de estudos e à Secretaria de Tecnologia Industrial STI-MIC pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSARSSON, A. - Some reactions during chip storage and how to control them. **Pulp and paper magazine of Canada**, Westmount, 70(18): 74-9, etc.1969.
- AUER,C.G. et alii - Utilização do fungo termófilo **Thermoascus aurantiacus** na degradação dirigida de cavacos de eucalipto. **Silvicultura**, São Pau10, 11(41): 194,1986.
- BERGMAN, O. et alii - Reduction of microbial deterioration in outside chips storage by alkali treatment. **Svensk papperstidning**, Stockholm, 73(20): 653-66, 1970.
- BJORKMAN, E. & HAEGER, G.E. - Outdoor storage of chips and damage by microorganisms. **Tappi**, Atlanta, 46(12): 757-66, dez. 1963.
- CARVALHO,P.C.T. et alii - Estudos sobre o armazenamento de cavacos de **Eucalyptus** spp ao ar livre. In: CONGRESO FORESTAL ARGENTINO, 1, Buenos Aires,outubro 1969. **Anais**. Buenos Aires, Servicio National Forestal, 1969. p.649-68.
- COWLING, E.R. et alii - Changes in value and utility of pulpwood during harvesting, transport, and storage. **Tappi**, Atlanta, 57: 120-2, 1974.
- ELLIS, O.H. - Thermophilic fungi isolated from a heated aquatic habitat. **Mycologia**, New York, 72(5): 1030-3, set./out.1980.
- ESLYN, W.E. - Evaluating chemicals for controlling biodeterioration of stored wood chips. **Forest products journal**, Madison, 23(11): 21-5, nov.1973.
- EVANS, H.C. - Thermophilous fungi isolated from the air. **Transactions of the British Mycological Society**, London, 59(3): 516-9, dez.1972.

- FOELKEL, C.E.B. & ZVINAKEVICIUS, C. - Estudo da influência da deterioração de cavacos de eucalipto nas propriedades da celulose kraft. **O papel**, São Paulo, 40(7): 40-8, jul.1979.
- GOCHENAUR, S.E. - Distributional patterns of mesophilous and thermophilous microfungi in two bahamian soils. **Mycopathologia**, Chicago, 57(3): 155-64, 1975.
- HUDSON, H.J. - Thermophilous and thermotolerant fungi in the air-spora at Cambridge. **Transactions of the British Mycological Society**, London, 60: 595-8, 1973.
- JUDICE, R. et alii - Miceti termofili: 1 - Contributo sull'isolamento, sul metabolismo e sulla capacita di degradazione d. materiali organici. **Allionia**, Turin, 20: 53-73, 1974.
- KUBLER, H. - Air convection in self-heating piles of wood chips. **Tappi**, Atlanta, 65: 79-83, 1982a.
- KUBLER, H. - Self-heating of wood products due to residence oxygen. **Wood Science**, Madison, 15(2): 97-100, out.1982b.
- SANDHU, D.K. & SINGH, S. - Airborne thermophilous fungi at Amristar, India. **Transaction of the British Mycological Society**, London, 84: 41-5, 1985.
- SMITH, R.S. & OROSU-ASIEDU, A. - Distribution of thermophilic and thermotolerant fungi in a spruce-pine chip pile. **Canadian journal of forest research**. Ottawa, 2: 16-26, 1972.
- TANSEY, M.R. - Isolation of thermophilic fungi from self-heated, industrial wood chip piles. **Mycologia**, New York, 63(3): 537-47, mai./jun.1971.
- TANSEY, M.R. & JACK, M.A. - Thermophilic fungi in sun-heated soils. **Mycologia**, New York, 68(5): 1061-75, set./out.1976.
- UPSHER, F.J. - Spore deposition on the exposed agar plate. **Transactions of the British Mycological Society**, London, 84: 162-4, 1985.
- WARD, J.E. & COWLEY, G.T. - Thermophilic fungi of some Central South Carolina forest soils. **Mycologia**, New York, 64(1): 200-5, jan./fev.1972.
- ZOCH, L.L. et alii - Storage of aspen whole - tree chips under laboratory conditions. **USDA. Forest Service FPL research paper**, Madison (288): 1-6, 1976.