MICRORGANISMOS DOS SOLOS AMAZÔNICOS PRODUTORES DE CELULASES, HEMICELULASES E LIGNINASES

Cinara Lucia Pires ALBUQUERQUE[1]; Luiz Antonio de OLIVEIRA[2]; Carla Maria de Souza BRAGA[3].
[1]Bolsista PIBIC/FAPEAM; [2]Orientador INPA/CPCA; [3]Mestranda UEA/Biotecnologia.

1. Introdução

O solo é um importante habitat para os microrganismos, onde eles desempenham um importante papel de decomposição da matéria orgânica do solo (MO), catalisando transformações únicas e indispensáveis no ciclo global do carbono e nitrogênio (Alexopoulus *et al.*, 1996). A forma de microbiota existente nos solos consiste da vida mais abundante e diversificada da Terra. Segundo Torsvik & Ovreas (2002), em um grama de solo pode conter mais de 10.000 genomas de microrganismos diferentes. O uso de microrganismos para a produção de etanol é conhecido há centenas de anos e no momento atual, podem ser selecionados para aumentar a eficiência da produção de biocombustível, utilizando os resíduos vegetais. O uso de resíduos agrícolas e florestais para produtos biotecnológicos ainda é muito pequeno. O bagaço da cana de açúcar, por exemplo, apesar de representar cerca de 70% do seu peso, pouco é utilizado, bem como os resíduos de madeiras em serrarias. A matéria orgânica de origem vegetal é rica em celulose, hemicelulose e lignina, e nos solos há microrganismos capazes de metabolizar esses componentes, convertendo-os em compostos mais simples, como os sólidos solúveis. A composição da comunidade microbiana influencia a produção de enzimas (Felsk & Akkermans, 1998), pelas quais conseguem se alimentar e reciclar nutrientes nos ambientes em que vivem, podendo resultar em subprodutos como alcoóis e ácidos em condições de fermentação. Isso porque a diversidade metabólica tem como base, a variação dos perfis de resposta catabólica, a partir do estudo do padrão de utilização de diferentes substratos de C (Fengel & Wegener, 1984; Goering & Fry, 1984; Hammel, 1996; Guerra *et al.*, 2003). Portanto, encontrar microrganismos capazes de converter material vegetal em sólidos solúveis é o primeiro passo para a sua conversão em álcool e pode ser um meio de aumentar a produção de biocombustível de valor econômico considerável.

2. Material e métodos

Foram realizados quatro experimentos de laboratório com diferentes amostras de solos da Amazônia, visando avaliar a capacidade de suas microbiotas converterem serragem de assacu (*Hura crepitans* L.) e bagaço de cana em sólidos solúveis como precursores de produção de etanol. No presente resumo são apresentados os resultados dos dois últimos, que consistiram em avaliar os teores de sólidos solúveis (avaliados através do grau Brix) produzidos pela microbiota do solo usando material vegetal como fonte de carbono. No primeiro foram usados 10g de solo, 2g de assacú ou bagaço de cana, 4 mL de água destilada em cada recipiente de vidro. Nesse experimento, além do tratamento testemunha, consistindo do assacú ou bagaço de cana, foram utilizados dois solos de Urucu (Ponto 2 e Ponto 3) e, quatro amostras de solo de áreas do INPA (INPA 1, 3, 12 e 13). Foi medido o grau Brix a cada 7 dias, acrescentando água estéril sempre que necessário. Como esses sólidos solúveis são, em grande parte, representados pelos açúcares totais, ele às vezes também é usado como estimativa de açúcares. A medição da quantidade desses compostos serve de referência para se saber quanto de fonte de carbono existe no meio, que pode ser convertido em álcool se for adicionado um microrganismo fermentador, como as leveduras. No segundo experimento foram usados 24 erlenmeyers de 125 mL, adicionando-se em cada um, 5,0 g de amostras de solo e 50 mL de uma solução contendo KH2PO4 1,0 g (NH4)2SO4 1,65 g,, MgSO4 0,2 g ,FcCL3 0,05 g, CACL3 0,02 g, K2HPO4 1,0 g. Como fonte de carbono foram adicionados 0,5 g de assacú ou 0,5 g de bagaço de cana, levado para autoclavar. Após a esterilização, foram adicionados em cada um, 5,0 g de solos, usando-se três repetições para cada tratamento. Nesse experimento foram testadas as amostras Ponto 2 e Ponto 3 de Urucu e, a amostra INPA 3. Amostras testemunhas, contendo apenas os solos foram acrescentadas ao experimento. Em seguida, foram colocados em um agitador de mesa visando homogeneização e oxidação 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 º Brix aos 7, 14, 21, 28 dias.

3. Resultados e discussão

Os resultados obtidos com o primeiro experimento (Tabela 1) mostram que houve um aumento na produção de sólidos solúveis com a adição do assacú à medida que o tempo de incubação foi aumentando, sendo que a microbiota do solo de Urucu identificado como Ponto 2 foi a que melhor se comportou, seguido pelo outro solo de Urucu, o Ponto 3. Dos solos coletados no INPA, os

melhores foram o INPA 1 e o INPA 3. Ao se analisar os tratamentos onde se adicionou bagaço de cana, observa-se um alto valor de sólidos solúveis no inicio, devido à quantidade de glicose que se encontra como resíduo. No entanto, esses valores diminuíram aos 14 dias, mantendo-se relativamente constantes até os 47 dias de incubação, quando depois se elevaram um pouco, sem ultrapassar, no entanto, os valores iniciais. As microbiotas de solos que converteram mais material vegetal em sólidos solúveis foram as mesmas observadas ao se adicionar o assacu, isto é, as das amostras Ponto 2, Ponto 3, INPA 1 e INPA 3.

Tabela 1. Avaliação da produção de sólidos solúveis produzidas pela microbiota de solos usando assacu ou bagaço de cana como fontes de carbono.

	DIAS DE INCUBAÇÃO									
SOLOS	**8**	**14**	**17**	**22**	**32**	**47**	**57**	**60**	**65**	**77**
	ºBrix									
Test. A	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Ponto 2 A	1,8	2,0	3,6	4,3	5,0	5,1	5,0	5,3	6,0	6,0
Ponto 3 A	1,0	1,5	4,0	4,0	5,6	8,3	8,3	6,3	4,5	4,6
Inpa 1 A	1,0	1,5	3,0	3,3	0,0	3,8	3,0	2,8	1,1	4,0
Inpa 3 A	1,3	1,5	3,3	3,6	4,6	3,3	4,5	5,1	2,8	3,3
Inpa 12 A	1,0	1,1	1,8	1,6	1,0	1,0	1,0	1,0	0,6	0,3
Inpa 13 A	1,3	1,5	3,3	3,3	2,0	3,6	2,3	1,5	1,5	2,5
Média de assacú	1,2	1,4	2,8	3,0	2,7	4,3	4,2	3,9	3,1	3,7
Test. C	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Ponto 2 C	4,0	2,0	1,5	2,7	0,0	1,7	2,0	4,2	2,0	3,1
Ponto 3 C	3,5	1,5	1,5	2,1	3,0	2,3	2,0	3,3	2,6	3,8
Inpa 1 C	3,3	1,5	1,5	2,0	1,5	1,0	2,0	1,8	2,6	2,3
Inpa 3 C	3,1	1,5	1,5	2,0	2,0	1,7	3,5	3,6	2,1	3,0
Inpa 12 C	3,0	1,5	1,5	2,1	1,5	1,1	1,5	1,0	2,2	0,9
Inpa 13 C	3,1	1,5	3,0	2,8	0,0	2,0	4,0	3,0	2,1	1,7
Média de cana	3,6	2,1	2,3	2,7	1,8	2,2	3,0	2,9	2,7	2,9

A: serragem de assacú; C: Bagaço de cana

Os melhores solos do segundo experimento foram usados no quarto experimento, no qual os erlenmeyers foram colocados numa mesa agitadora e a relação solos/solução foi bastante modificada, conforme relatado na metodologia. Nesse caso, como a produção dos sólidos solúveis ficou mais diluída, os valores Brix foram bem menores (Tabela 2) do que os obtidos no experimento anterior, pois o tempo de incubação ainda é pequeno. Os valores começaram a se diferenciar dos tratamentos testemunhas aos 13 dias de incubação, mas como ainda está em andamento, espera-se que com o tempo eles aumentem significativamente em relação aos tratamentos testemunhas (solos sem a adição de assacu ou cana, onde apenas a matéria orgânica já presente nos mesmos serviu de fonte de carbono para suas microbiotas).

Tabela 2. Avaliação da produção de sólidos solúveis (ºBrix) produzidas pela microbiota de solos usando assacu ou bagaço de cana como fontes de carbono.

DIAS DE INCUBAÇÃO						
SOLOS	4	7	11	13	16	20
	ºBrix					
Test. Ponto 2	0,8	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0
Test. Ponto 3	0,7	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0

Test. Inpa 3	0,4	0,9	1,0	1,0	1,2	1,0
Médias de testemunhas	0,6	0,8	1,0	1,0	1,0	1,0
Ponto 2 A	0,7	1,5	1,1	1,7	2,0	2,1
Ponto 3 A	0,8	1,0	1,0	1,8	1,7	1,7
Inpa 3 A	0,5	1,0	1,0	1,4	2,1	2,5
Médias de assacu	0,6	1,1	1,0	1,6	1,9	2,1
Ponto 2 C	0,8	1,1	0,7	1,6	3,1	3,2
Ponto 3 C	0,7	0,8	1,1	2,2	1,7	1,8
Inpa 3 C	0,4	1,3	0,9	1,7	1,6	1,6
Médias de cana	0,6	1,0	0,9	1,8	2,1	2,2

A: serragem de assacú; C: Bagaço de cana

4. Conclusões

As amostras de solos indicaram microbiotas com potenciais diferentes para metabolizar o assacú e o bagaço de cana em sólidos solúveis.

As melhores microbiotas em termos de conversão do material vegetal em sólidos solúveis foram as encontradas nos solos Ponto 2 e Ponto 3, ambas de Urucu e, as INPA 1 e INPA 3.

Estudos subseqüentes permitirão avaliar quanto desses sólidos solúveis serão convertidos em etanol sob condições de fermentação.

5. Referências

Alexopoulus CJ, MIMS CW, Blackwell M. 1996. *Introductory mycology.* New York : John Wiley & Sons, 1996.

Felsk, A. Akkermans, D.L. 1998. Spatial Homogeneity of abundant bacterial 16S rRNA in grassland sols. *Microbiology Ecology.* New York. v. 36.

Fengel D, Wegener G. 1984. "*Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions*". De Gruyter, Berlin New York.

Goering, C.E.; Fry, B. 1984. Enzime durability screening test of a diesel oil/soy oil/alcohol microemulsion fuel. *J. Am. Oil Chem. Soc.,* 61(10):1627-1631.

Guerra A, Mendonça R, Ferraz A. 2003. "Molecular weight distribution of wood components extracted from *Pinus taeda* biotreated by *Ceriporiopsis subvermispora" Enzyme and Microbial Technology 33*: 12-18.

Hammel KE, 1996. Extracellular free radical biochemistry of ligninolytic fungi. *New J. Chem. 20,* 195-198.

Torsvik, V.; Ovreas, L. 2002. Microbial diversity and function in soil: form genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, v. 5, p. 240-245, 2002.