



# AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DIGESTIVA DE CUPINS SUBMETIDOS A DIETAS RICAS EM LIGNOCELULOSE

**Palavras-Chave:** cupins; lignocelulose, dietas, capacidade digestiva.

**Autores/as:**

**Alex Ai Sasaki [UNICAMP]**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosana Goldbeck [UNICAMP]**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Alberto José Arab Olavarrieta [UFABC]**

---

## INTRODUÇÃO:

Os cupins são considerados os menores e mais eficientes biorreatores do planeta (Scharf, 2008) através da conversão em energia a partir da digestão da lignocelulose. Esses insetos são de grande importância para o desenvolvimento de novas estratégias de utilização de substratos lignocelulósicos, favorecendo o meio ambiente a partir da diminuição de áreas destinadas ao plantio e, conseqüentemente, a redução do efeito estufa (Moreira et al., 2018).

Neste contexto, esperamos que cupins sejam capazes de explorar vários tipos de substratos lignocelulósicos, através da grande diversidade de sua flora intestinal, e sejam capazes de modular a microbiota intestinal e sua capacidade digestiva diante de alterações da fonte alimentar de forma mais eficiente do que espécies com hábitos alimentares mais restritos (menor diversidade microbiana). Em face disto, o presente trabalho objetiva caracterizar o efeito de dietas ricas em lignocelulose em duas espécies de cupins com dieta intermediária (*P. araujo* e *S. euamignathus*) bem como avaliar a capacidade digestiva da lignocelulase nos cupins submetidos à dieta rica em lignocelulose, através da determinação da composição do trato intestinal e das fezes produzidas pelos cupins submetidos à dieta em questão.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA:

### Cupins

Cupins exercem um papel importante na ciclagem de carbono e nitrogênio no meio ambiente. Responsabilizando-se por cerca de 90% da degradação da matéria vegetal-seca em florestas tropicais, os cupins são considerados ecologicamente como um biorreator natural de transformação de materiais lignocelulósicos em açúcares. Seu “arsenal” enzimático (endógeno e simbiótico) é uma fonte de enzimas que agem em um sinergismo eficiente e que deve ser estudada visando a sua aplicação biotecnológica (Cairo, F., et al, 2012).

Os cupins (Blattaria: Isoptera) são insetos eussociais que tem se especializado na exploração de substratos lignocelulósicos com diferentes níveis de humificação (Dietrich; Brune, 2014; Bourguignon et al., 2015). A digestão da lignocelulose pelos cupins é realizada basicamente por enzimas produzidas pelos simbiossitos do trato digestivo (Brune, 2014; Tokuda; Watanabe, 2007). O sucesso evolutivo da família Termitidae (o grupo mais diversificado de cupins com mais de 80% das espécies conhecidas, chamado regularmente de “cupins superiores”) é atribuído à perda dos protozoários e aquisição de linhagens especializadas de bactérias, acompanhada pela diversificação da dieta e de um elaborado repertório comportamental (Mikaelyan et al., 2015; Menezes et al., 2017).

Estas mudanças permitiram aos termitídeos a exploração de uma maior gama de alimentos, entre eles, madeira, serapilheira, gramíneas vivas ou mortas, solo com alto conteúdo de material orgânico de origem vegetal em processo de humificação, excrementos de animais, microepífitas e ainda o micélio de alguns fungos (Donovan; Eggleton; Bignell, 2001; Eggleton; Tayasu, 2001; Barbosa-Silva et al., 2016). Contudo, algumas espécies de termitídeos são capazes de explorar vários tipos de substratos lignocelulósicos sendo consideradas como de hábito alimentar intermediário (Menezes et al.; 2017; Constantino, 2015). A diversificação da dieta em Termitidae teve um grande efeito na estrutura da comunidade bacteriana intestinal desses insetos (Brune, 2014).

A estrutura e diversidade da comunidade bacteriana em cupins com dietas mais complexas, como é o caso das espécies *Procornitermes araujoi* (Emerson, 1952) e *Silvestritermes euamignathus* (Silvestri, 1901) (Termitidae: Syntermitinae). Esses cupins se alimentam de diferentes tipos de substratos lignocelulósicos e, portanto, são considerados como de hábito alimentar intermediário (Constantino, 2015). Além das diferenças referentes à composição da comunidade das bactérias simbiossitos entre esses cupins e outros termitídeos, a diversidade de bactérias no trato digestivo de *P. araujoi* e *S. euamignathus* é maior do que nas espécies com hábitos alimentares mais simples (Moreira et al., 2018). Esses resultados sugerem que dietas mais complexas requerem de uma maior diversidade de simbiossitos intestinais para extrair mais eficientemente os nutrientes do alimento (Moreira et al., 2018).

## Digestibilidade da Lignocelulose

A digestão da lignocelulose pelos cupins é um processo complexo mediado por simbioses intestinais e enzimas endógenas que atuam na degradação do alimento ingerido (Breznak; Brune, 1994). No caso dos representantes da família Termitidae, bactérias simbioses da porção posterior do intestino atuam diretamente na hidrólise da celulose e hemicelulose (Warnecke et al., 2007).

A degradação da lignocelulose envolve um complexo enzimático e tem início durante o processo de mastigação dos cupins. Os materiais lignocelulósicos são quebrados em partículas menores e, em seguida, ocorre a despolimerização da lignina com participação das enzimas lacases e peroxidases (Breznak; Brune, 1994). A etapa seguinte é a degradação da hemicelulose, que envolve a atividade combinada de diversas enzimas, como endo e exo  $\beta$ -1,4-xilanases,  $\beta$ -xilosidases,  $\alpha$ -arabinofuranosidases,  $\alpha$ -uronidases e esterases (Scharf, 2008). A etapa final é a hidrólise da celulose em suas unidades de glicose pela atividade combinada de endo- $\beta$ -1,4-glicanases, celobiohidrolases e  $\beta$ -1,4-glicosidases. As endo- $\beta$ -1,4-glicanases hidrolisam aleatoriamente ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas dos polímeros de celulose, liberando oligômeros de quatro ou mais unidades de glicose (Tokuda et al., 1997). As celobiohidrolases atacam as extremidades não-redutoras das cadeias de celulose, liberando uma unidade de celobiose após hidrólise. Por atacar somente as extremidades não-redutoras das cadeias, a sua atividade é reduzida, a menos que as endoglicanases forneçam substrato suficiente. A terceira enzima envolvida para que ocorra a hidrólise completa da celulose à glicose é a  $\beta$ -1,4-glicosidase, hidrolisando a celobiose à glicose (Breznak; Brune, 1994).

De acordo com (Moreira et al., 2018) resultados sugerem que dietas mais complexas requerem de uma maior diversidade de simbioses intestinais para extrair mais eficientemente os nutrientes do alimento. Os cupins com dietas mais complexas compostas por diferentes tipos de substratos lignocelulósicos, como é o caso das espécies *Procornitermes araujoi* (Emerson, 1952) e *Silvestritermes euamignathus* (Silvestri, 1901), são considerados como de hábito alimentar intermediário (Constantino, 2015). Além das diferenças referentes à composição da comunidade das bactérias simbioses entre esses cupins e outros termitídeos, a diversidade de bactérias no trato digestivo de *P. araujoi* e *S. euamignathus* é maior do que nas espécies com hábitos alimentares mais simples (Moreira et al., 2018).

## A Biomassa Lignocelulósica e o Bioetanol

A lignocelulose é composta por celulose, hemicelulose e lignina. Celulose e hemicelulose são polissacarídeos estruturais compostos por unidades de açúcar unidas por ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 (Watanabe; Tokuda, 2010). A celulose é composta por polímeros rígidos de glicose com alto peso molecular, enquanto a hemicelulose é um polímero heterogêneo de pentoses (xilose,

arabinose), hexoses (manose, galactose, glicose) e ácidos de açúcar (ácidos glicurônico ou galacturônico) (Bacic; Harris; Stone, 1988). Também é comum encontrar hemiceluloses formadas por xilana, laminarina e liquenana (BEG et al., 2001). A lignina é um polímero tridimensional de compostos fenólicos ligados entre si e à hemicelulose por ésteres. A lignina é sintetizada principalmente a partir de três álcoois hidroxicinamil (p-cumaril, coniferil e sinapil), cujas proporções variam dependendo da espécie de planta (Ralph et al., 2004).

A capacidade de digestão da lignocelulose pelos cupins e seus simbiossios tem grande importância para o desenvolvimento de novas estratégias de conversão em energia a partir de substratos vegetais tais como bagaço e palha de cana de açúcar, resíduos de espiga e palha de milho, e cascalho de madeira. Pelo fato de que eles são capazes de alterar a estrutura da microbiota intestinal de acordo com a composição da dieta (Su, L. et al., 2017; Miyata et al., 2007). Esta estratégia pode permitir aos cupins aumentar a eficiência na digestão de componentes específicos da lignocelulose (Su, L. et al., 2017; Huang et al., 2013).

A partir da biomassa lignocelulósica, temos uma alternativa ao mosto açucarado da cana que é atualmente empregado como matéria prima para produção de etanol, sendo considerada vantajosa pelo fato de ser uma fonte de energia renovável, propícia ao meio ambiente, além de não concorrer com a agricultura destinada a alimentação e encontrada em abundância e a baixo custo. Sendo uma alternativa para evitar a expansão desmedida de áreas de cultivo, devido à necessidade de um aumento significativo na produção de bioetanol, é o desenvolvimento de processos de segunda geração, que permitam a utilização de biomassas residuais de composição lignocelulósica. Estas biomassas estão disponíveis nos resíduos de colheita, ou do processamento das principais culturas, como a cana-de-açúcar, milho e trigo. Dentre estas biomassas, os resíduos celulósicos provenientes da produção de etanol é uma das fontes mais promissoras de carboidratos para a produção de etanol de segunda geração (Pereira Jr. et al., 2008; Benedetti et al., 2009).

## **BIBLIOGRAFIA**

BACIC, A.; HARRIS, P.J.; STONE B.A. **Structure and function of plant cell walls**. In: Stumpf, P.K.; CONN, E.E. (ed). *The biochemistry of plants*. New York : Academic Press, v.14, p.297–371, 1988.

BEG, Q.K.; KAPOOR, M.; MAHAJAN, L.; HOONDAL, G.S. **Microbial xylanases and their industrial applications: a review**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v.56, p.326–338, 2001.

BENEDETTI OIS, CHAVES RQ, MAGALHÃES AM, BLOS ALF, SILVA TN. **Análise preliminar da produção de etanol a partir de celulose: caminhos e desafios para a produção de álcool no Rio Grande do Sul**. *Eng. Ambiental*, 6:272-284, 2009.

- BREZNAK JA, BRUNE, A. **Role of the microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites.** *Ann. Rev. Entomol.* 39, 453–487, 1994.
- BRUNE A, OHKUMA M. **Role of the termite gut microbiota in symbiotic digestion.** *Biology of Termites: a Modern Synthesis*, 439-475, 2011.
- CONSTANTINO R, 2015. **Cupins do Cerrado.** Technical Books, Rio de Janeiro, 167p.
- CAIRO, F., et al. **Análise do digestoma do cupim inferior *Coptotermes gestroi* visando aplicação na produção de bioprodutos lignocelulósicos.** 2012. 171 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/316780>>.
- HUANG XF, BAKKER MG, JUDD TM, REARDON KF, VIVANCO JM. **Variations in Diversity and Richness of Gut Bacterial Communities of Termites (*Reticulitermes flavipes*) Fed with Grassy and Woody Plant Substrates.** *Microb. Ecol.* doi:10.1007/s00248-013-0219-y, 2013.
- MIYATA R. *et al.* **Influence of feed components on symbiotic bacterial community structure in the gut of the wood-feeding higher termite *Nasutitermes takasagoensis*.** *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71, 1244–51, 2007.
- MOREIRA EA *et al.* **Microbial Communities of the Gut and Nest of the Humus- and Litter-Feeding Termite *Procornitermes araujo* (Syntermitinae).** *Curr. Microbiol.* 1–10. doi:10.1007/s00284-018-1567-0, 2018.
- PEREIRA JR. N, COUTO MAPG, SANTA ANNA LMM. **Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery.** In Series on Biotechnology, vol.2, Editora Amiga Digital UFRJ, Rio de Janeiro, 45p, 2008.
- RALPH SA, CHRINTENSEN JH, BOERJAN, W. **Lignins: natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids.** *Phytochemistry Reviews*, v.3, p.29–60, 2004.
- Scharf ME. **Termite digestomes as sources for novel lignocellulases.** *Society* 540–552. doi:10.1002/bbb, 2008.
- SU, L. *et al.* **Variation in the Gut Microbiota of Termites (*Tsitermes ampliceps*) Against Different Diets.** *Appl. Biochem. Biotechnol.* 181, 32–47, 2017.
- TOKUDA, G.; WATANABE, H.; MATSUMOTO, T.; NODA, H. Cellulose digestion in the wood-eating higher termite, *Nasutitermes takasagoensis* (Shiraki): **distribution of cellulases and properties of endo- $\beta$ -1,4-glucanase.** *Zoological Science*, Tokyo, v.14, p.83–93, 1997.
- TOKUDA G, WATANABE H. **Hidden cellulases in termites: revision of an old hypothesis.** *Biol. Lett.* 3, 336–339, 2007.
- WARNECKE F *et al.* **Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite.** *Nature* 450, 560–565, 2007.
- WATANABE, H.; TOKUDA, G. **Cellulolytic systems in Isects.** *Annual Review of Entomology*, Stanford, v.55, p. 609-623. 2010