

# Produção enzimática de fungos basidiomicetes e importância biotecnológica no tratamento de biomassa lignocelulósica na produção de alimento animal

**Ruben Darío Romero Peláez, Felix Gonçalves de Siqueira**

Universidade Federal do Tocantins, Pós-graduação em Biotecnologia, Embrapa Agroenergia  
[acroporapalmata2204@gmail.com](mailto:acroporapalmata2204@gmail.com)

## RESUMO

O cultivo de cogumelos Basidiomycetes tem atraído grande interesse científico devido ao seu potencial aproveitamento biotecnológico. Uma das aplicações mais importantes está em usar esses organismos no pré-tratamento biológico de biomassa lignocelulósica, matéria-prima para a obtenção de etanol segunda geração, sendo uma alternativa ambiental e economicamente sustentável dos pré-tratamentos convencionais. Além disso, a ação enzimática destes organismos pode transformar biomassa em um recurso altamente nutritivo para o consumo animal. Os fungos associados à podridão de madeira podem produzir numerosas enzimas extracelulares capazes de degradar os componentes da parede celular (celulose, hemicelulose & lignina), o que é usado no seu meio natural para processos metabólicos. Em termos industriais, esta natureza enzimática é explorada para a otimização de processos químicos e físicos que geralmente representam um grande investimento energético e econômico, assim como a geração de poluentes ambientais. Neste trabalho, serão explicados os principais aspectos dos fungos da podridão de madeira em relação com a sua produção enzimática e sua aplicação na biotecnologia, com um enfoque no pré-tratamento biológico de biomassa lignocelulósica pra produção de insumo animal.

**Palavras-Chave:** basidiomicetes, enzimas, biomassa lignocelulósica

## ABSTRACT

The Basidiomycetes mushrooms cultivation has attracted a great scientific interest cause his potential biotechnological use. One of the most important applications is the use of these organisms as biological pretreatment of lignocellulosic biomass, what is the feedstock to obtain second generation ethanol, being an environmental and economic sustainable alternative to conventional pretreatments. In addition, the enzymatic action of these organisms can transform the biomass in recourse highly nutritive as animal food. The fungi associated with wood rot can produce several able extracellular enzymes to degrade the wall cell compounds (as cellulose, hemicellulose and lignin), what is used to metabolic processes in nature. In industrial terms, this enzymatic nature is explored to optimize chemical and physical processes that represent a large energy and money investment, as well as the generation of environmental pollutants. In this work, will be explained the main aspects of wood rot fungi regarding them enzymatic production and biotechnological applications, focusing in the biological pretreatment of lignocellulosic biomass to produce animal feed. biomass to produce animal feed.

**Keywords:** basidiomycetes fungi, enzymes, lignocellulosic biomass.

## INTRODUÇÃO

Os fungos Basidiomycetes relacionados com a podridão de madeira possuem uma ampla gama de enzimas

permitindo-lhes degradar a lignocelulose da parede celular das plantas. Os mecanismos envolvidos neste processo são de importância metabólica ao permitir o acesso a nutrientes

essenciais para o crescimento dos organismos, além de contribuir na transformação de material vegetal morto na natureza. As enzimas são segregadas extracelularmente e podem ser divididas em oxidativas e hidrolíticas, entre as quais estão as celulases, as hemicelulases e as enzimas modificadoras da lignina (Dashtban et al., 2009). Os tipos de enzimas segregadas dependem da espécie de fungo, sendo agrupados em três grandes categorias segundo seu mecanismo de ação: os fungos da podridão branca (White rot fungi - WRF), fungos da podridão castanha (Brown rot fungi - BRF) e fungos da podridão branda (Soft rot fungi- SRF) (Jalc, 2002). A natureza enzimática destes organismos tem sido amplamente aplicada em diferentes campos da biotecnologia, é de grande importância no tratamento de biomassa lignocelulósica.

As atividades agrícolas geram grandes quantidades de resíduos sob a forma de material lignocelulósico (só no Brasil são estimados aproximadamente 1,06x106 toneladas por ano). Estes materiais representam uma fonte potencial de produtos com alta energia. No entanto, na maioria das situações aqueles são depositados no meio sem passar por um tratamento adequado, causando efeitos adversos nos ecossistemas adjacentes e perdas econômicas devido a seu controle (Levine et al., 1996, Palacios et al., 2005). Assim, tem sido proposto o uso destes resíduos para a produção de etanol de segunda geração, onde é utilizado o elevado teor de hidratos de carbono dos materiais lignocelulósicos (Zhou e Ingram, 2000). As etapas deste processo encontram-se resumidas no pré-tratamento de biomassa, hidrólise ou sacarificação, fermentação e separação. No pré-tratamento destina-se a reduzir a força da lignina e solubilizar a hemicelulose da parede da célula para aumentar o acesso a celulose, para depois ser catalisado em açúcares fermentáveis de seis carbonos (Sarkar et al., 2012). Nesta fase são comumente usadas tecnologias térmicas, químicas ou termoquímicas, por exemplo, a explosão de vapor, a explosão CO<sub>2</sub>, AFEX, NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, etc., que no entanto são muito eficazes na degradação de lignina e hemicelulose, eles exigem altos investimentos energéticos e econômicos, e podem gerar

compostos tóxicos para o meio ambiente (Chaturvedi e Verma, 2013; Keller et al., 2003; Shi et al., 2008)

Além do uso na produção de biocombustíveis, os resíduos agroindustriais têm um grande potencial como um ingrediente alimentar. A energia reservada nestes materiais pode ser explorada para interesses comerciais, especialmente na alimentação de animais ruminantes, para uso de insumos a um custo menor e facilmente acessível. No entanto, o uso de estes elementos como alimentos tem o mesmo obstáculo na obtenção de etanol, uma vez que muitos componentes bioquímicos de biomassa, principalmente lignina, são de difícil digestão (Dashtban et al., 2010).

O pré-tratamento biológico é uma alternativa menos dispendiosa e afável como o ambiente, onde aplica-se a capacidade de fungos para degradar os principais componentes de biomassa, incluindo celulose, hemicelulose, lignina e certos derivados de compostos que são inibidores da ação enzimática das celulases (Dashtban et al., 2010). Na execução deste tipo de tratamento é necessário um maior investimento de tempo em relação a tratamentos físicos e químicos em termos de crescimento e de cuidados de fungos no meio, no entanto, as vantagens representadas na redução de máquinas, reprodutibilidade em condições não-estéreis e menos complexas, e reutilização dos substrato são muito significativas (Isroi et al., 2011). Numerosos estudos têm mostrado que o pré-tratamento biológico com fungos tem a capacidade de aumentar o valor nutricional e a digestibilidade da biomassa vegetal (Okano et al., 2009).

Os fungos Basidiomycetes são amplamente conhecidos por sua versatilidade na gastronomia, na medicina popular, na biorremediação, como produtores de moléculas com atividade antibiótica e entomopatogênicos (Burdshall, 1998). Este trabalho tem o objetivo de orientar os leitores sobre os principais e atuais aspectos da utilização de fungos Basidiomycetes relacionados com a podridão de madeira no pré-tratamento da biomassa lignocelulósica para a produção de rações para consumo animal.

### Pré-tratamento biológico da biomassa lignocelulósica.

O processamento de biomassa lignocelulósica como método para obtenção de combustíveis está constituído por etapas que envolvem tratamentos físicos, químicos e biológicos (Ortiz e Quintero, 2014). O pré-tratamento da biomassa é a etapa mais crítica do processo, devido à natureza cristalina da celulose, a presença de lignina e a complexa interação entre a hemicelulose e a celulose dificultam a acessibilidade da celulose para os processos de hidrólise enzimática ou química (Sarkar et al., 2012). Na atualidade, os principais tipos de pré-tratamento que são usados na biomassa são aqueles que envolvem processos físico-químicos, por exemplo, a explosão a vapor, a explosão com CO<sub>2</sub> e o tratamento com água quente (Chemmes et al., 2013). Outros estudos revelam a grande capacidade de degradação de lignina nos pré-tratamentos químicos, usando NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou AFEX (Isroi et al., 2011). Nestes processos a configuração estrutural da parede celular é modificada, deixando a celulose livre para ser hidrolisada e convertida em açúcares fermentáveis. Os principais problemas que estão relacionados com os processos químicos e físicos são a geração de poluentes, os altos custos energéticos, a complexidade no uso da maquinaria e conseqüentemente, a dificuldade na comercialização (Mosier et al., 2005).

O pré-tratamento biológico, principalmente feito por fungos basidiomicetos, tem muitas vantagens em relação aos pré-tratamentos físicos e químicos. A principal e mais importante é a facilidade e o baixo custo de operação. No caso da obtenção de bioetanol é possível aumentar a produtividade volumétrica do etanol (Larsson et al., 1999) e no caso da produção de insumo animal, os fungos têm a capacidade de degradar os compostos que são de difícil digestão (i.e. lignina) além de incrementar o valor nutritivo da biomassa (Okano et al., 2009), sendo incluídos numerosos tipos de resíduos gerados de cultivos de muita importância como o milho, o trigo, o arroz, o algodão, a cana de açúcar e materiais lenhosos (Bak et al., 2009; Dias et

al., 2010; Keller et al., 2003; Shi et al., 2009; Xu et al., 2001; Yu et al., 2009).

O material lignocelulósico é composto em maior proporção pela celulose, seguida da hemicelulose (em conjunto chamadas holocelulose), lignina e pectina, e estão conectados com ligações covalentes e não covalentes (Zhang et al., 2009). A proporção entre celulose, hemicelulose e lignina é de 4:3:3, e difere das espécies vegetais lenhosas e herbáceas. Ao contrário da estrutura da celulose que está composta unicamente por glicose, a hemicelulose tem outras unidades de sacarídeos como manose, galactose e xilose, e a sua composição é diferente dependendo da espécie vegetal. O mesmo acontece com a lignina, com a diferença que ela é composta por unidades fenilpropanicas que dependendo da planta, pode ser de tipo siringil, guaiacil ou hidroxi-fenil. A forma como as unidades da lignina estão conectadas (principalmente pontes éter ou carbono-carbono) faz o processo de degradação impossível por meio de hidrólise. Os organismos que têm a capacidade de degradar lignina fazem o processo de produção de metabolitos secundários, e o gasto energético é sustentado pela hidrólise de carboidratos (Chen, 2012). Os únicos organismos conhecidos que são capazes de produzir uma degradação completa de lignina em CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O são os fungos da podridão branca (White rot fungi - WRF), devido a algumas bactérias e actinomicetes só terem a capacidade de modificar parcialmente a lignina (Chi, 2003). Os fungos da podridão marrom (Brown rot fungi - WRF) degradam preferencialmente polissacarídeos com escassa modificação de lignina, e os fungos da podridão branca (Soft rot fungi - SRF) degradam só polissacarídeos.

Além da ótima degradação de lignina, os fungos da podridão branca degradam a holocelulose. Os processos podem ser simultâneos, ou em reações independentes. Algumas espécies de fungos têm preferência pela degradação de lignina, por exemplo, *Pleurotus ostreatus* e *Ceriporiopsis subvermispora* (Placido e Capareda, 2015). O processo de degradação de lignina pode ser resumido nos seguintes passos: (1) a formação de uma estrutura de polifenol através de demetilação e hidroxilação; (2) a

produção de cadeias de hidrocarbono por adição de oxigênio para a clivagem dos pontes aromáticos;(3) corte dos hidrocarbonos alifáticos pela hidrólise (Mester e Tien, 2000). As enzimas envolvidas no processo serão descritas mais adiante.

### **Maquinaria enzimática dos fungos da podridão branca.**

A lignocelulose é o composto orgânico com maior abundância no mundo e representa um recurso renovável de muita importância. A estrutura e composição bioquímica da lignocelulose exige a utilização de tratamentos químicos, físicos e biológicos para o aproveitamento do seu potencial energético. O tratamento biológico, feito principalmente por fungos, está baseado na produção de enzimas com ação hidrolítica e oxidativa que atuam sinergicamente na degradação da holocelulose e a lignina, respectivamente (Membrillo et al., 2008; Stajic et al., 2006). A produção de enzimas modificadores de lignina (Lignin-modifying enzymes – LMEs) ou também chamadas ligninases, é a base da seleção das cepas de fungos no tratamento de biomassa para ser usado como composto alimentar, pelo fato de que a remoção de lignina incrementa a digestibilidade do material vegetal (Okano et al., 2005; Okano et al., 2009). As principais enzimas modificadoras de lignina que tem sido encontradas nos fungos da podridão branca são lacase (EC. 1.11.4.33), lignina peroxidase LiPs (EC. 1.11.1.14), manganês peroxidase MnPs (EC. 1.11.2.33) e as peroxidase versátil (EC 1.11.1.16). Recentemente, tem sido descritas novas classes de ligninases, como as peroxidases aromáticas após e as peroxidases descolorantes de tintas DyPs (Hofrichter et al., 2010). A codificação genética de lacase, MnPs e LiPs foram primeiro descritas em *Phanerochaete chrysosporium* (Cullen, 1997) e até agora, existem centenas de genes relacionados com a expressão de laccase e ao menos 65 para MnP e LiP (Janusz et al., 2013; Van Kuijk et al., 2015). No entanto, a degradação de lignina não está sempre relacionada com a ação de enzimas lignolíticas, o que deixa muitas incertezas no entendimento da função do complexo

lignolítico (Isror et al., 2011; Sarnklong et al., 2010; Shrivastava et al., 2011; Valmaseda et al., 1991).

As lactases e as outras enzimas modificadoras de lignina são conhecidas e aceitas por cumprir um importante rol na degradação de lignina usando fungos da podridão branca. No geral, o mecanismo de ação das lacases está no uso de oxigênio molecular como acceptor de elétrons, ao contrário, as peroxidases (MnP, LiP e VP) usam peróxido de hidrogênio como co-substrato. As lacases catalisam a formação de radicais fenoxil e sua inespecífica reação ocasiona a oxidação  $\alpha$ -hidroxil a cetona, clivagem arilo-alquilo, demetiloxilação e a clivagem  $\alpha$ -C $\beta$  em subestruturas fenólicas da lignina, além de reações de polimerização. As lacases são capazes de oxidar subestruturas não fenólicas da lignina e a sua ação pode ser induzida pela adição de  $\text{Cu}^{2+}$  ou compostos aromáticos como álcool veratrílico (Couto et al., 2001) e 2,5 xilidina (Leonowicz et al., 2001). O poder oxidativo das MnPs é transferido ao  $\text{MnP}^{3+}$  através de reações que envolvem a presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , onde a forma  $\text{Mn}^{2+}$  do manganês contido na enzima é oxidado por intermediários MnP-I e MnP-II até produzir  $\text{Mn}^{3+}$ . O  $\text{Mn}^{3+}$  penetra na estrutura celular lignificada e ataca desde o interior (Hammel e Cullen, 2008). No caso das LiPs, o mecanismo envolve tanto a presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e o íon  $\text{Fe}^{4+}$ ; no processo, as LiPs removem elétrons do substrato e criam radicais catiônicos, ocasionando a decomposição química da lignina principalmente pela clivagem das pontes  $\alpha$ -C $\beta$ , além de abrir os anéis fenólicos e outras reações (Hatakka, 2001; Wong, 2009). O mecanismo catalítico das VPs é similar as LiPs, além de ter capacidade de oxidar  $\text{Mn}^{2+}$  a  $\text{Mn}^{3+}$  (Higuchi, 2004; Wong 2009). O suporte na produção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  nos fungos é mediado pela ação de enzimas como a glioxal oxidase (GLOX), arilo álcool oxidase (AAOs) e oxidases açúcar intracelulares (Kirk e Farrel, 1987).

As cepas ds fungos têm diferentes comportamentos na produção de enzimas, tanto em classe como em quantidade. Por exemplo, *P. chrysosporium* produzem grandes quantidades de Lip e MnP, mas não

de lacase (Kersten e Cullen, 2007) ou VPs (Hammel e Cullen, 2008); Em *C. subvermispora* e *Ganoderma lucidum* a produção de lacase é muito alta e é incrementada pela presença de material lignocelulósico (de Souza Silva et al., 2005; Fukushima e Kirk, 1995). As lacases e as MnPs são as enzimas com maior extensão entre as espécies de fungos da podridão branca com muito poucas exceções. Ao contrário, as LiPs não foram observadas por exemplo em *Dichotomus squalens*, *C. subvermispora* e *P. ostreatus*, e a presença de VPs tem sido descrita apenas em algumas espécies de *Pleurotus* e *Bjerkanda* (Chen et al., 2010; Cohen, 2002; Périe e Gold, 1991).

### Uso de resíduos pré-tratados com fungos para a produção de alimento animal.

Desde que foi descrita a atividade lignolítica dos fungos da podridão branca, esta natureza foi implementada em vários campos da biotecnologia, incluindo a degradação de resíduos lignocelulósicos para a produção de ingredientes alimentares. Neste campo, os processos envolvidos são destinados a degradar o componente de lignina do material vegetal, aumentando a sua digestibilidade e tornando-se altamente nutritivos. Quase todos os estudos concentraram-se em alimentação de ruminantes, de acordo com a sua capacidade de degradar a celulose através de ação microbiana (van Kuijk et al., 2015). A maioria dos estudos tem mostrado que a utilização de fungos da podridão branca podem degradar a lignina e aumentar a digestibilidade de materiais lignocelulósicos, no entanto ainda existem muitas perguntas sobre a base biológica e bioquímica destes processos, principalmente para a ótima utilização em resíduos agroindustriais.

A seleção de cepas de fungos é importante no tratamento de biomassa lignocelulósica, devido aos diferentes mecanismos de degradação que têm as diferentes espécies (Palmer e Evans, 1983; Jalc, 2002). Os fungos da podridão branca tem um sistema de degradação de lignocelulósica mais complexo e completo, no entanto, existem algumas restrições à sua utilização para a produção de alimentos de

consumo animal. Neste caso, uma maior taxa de degradação de lignina em comparação com a celulose é uma condição necessária e ideal, a fim de evitar a perda de hidratos de carbono (Bento et al, 2014). As cepas fúngicas reconhecidas pela preferência em degradar a lignina são *Ceriporiopsis subvermispora*, shiitake, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii* e *Clathroides hericium* (Rahman et al, 2011; Van Kuijk et al., 2015; Wan e Li, 2010). Recentemente, vários estudos têm mostrado excelentes resultados de fungos na degradação de lignina e no aumento da digestibilidade in vitro de resíduos agroindustriais, por exemplo, em *Crinipellis sp.* (Mahesh e Mahini, 2013), *Brevispora Phlebia* e *P. floridensis* (Sharma e Arora, 2014) e *Schizophyllum commune* com adição de álcool veratrílico (Vijya e Reddy, 2011). Os fungos da podridão branca atacam os polímeros da lignina causando clivagem nos pontes interlignol em anéis aromáticos, aumentando digestibilidade in vitro (Kirk & Moore, 1972). Se a degradação de lignina é maior, também vai ser a disponibilidade de energia em forma de hidratos de carbono, e o processo pode ser otimizado se for usado o tratamento adequado.

Pode-se pensar que, ao selecionar uma estirpe de fungo sob condições específicas será possível obter excelentes resultados de acordo com a degradação de lignina. No entanto, estudos recentes indicam que, mesmo na mesma espécie de fungo a capacidade de degradação da lignina é diferente (Van Kuijk et al., 2015). A degradação da lignina nem sempre está relacionada com a produção de enzimas modificadoras de lignina, em algumas estirpes foram encontrados genes que codificam ligninases sem ser necessariamente expresso. Rajakumar et al. (1996) identificou a presença de genes LiP para *Ceriporiopsis subvermispora* e *Phanerochaete sordida*, apesar de não produzir LiP. Em Cavallazzi et al. (2004) a cepa de *L. edodes* tinha variação na atividade enzimática obtida em cada fase de crescimento. Diz-se que a produção de ligninases é influenciada por fatores ambientais ou condições de cultivo.

O cultivo de cogumelos em resíduos agroindustriais é normalmente realizada com fermentação em estado sólido (Solid state

fermentation- SSF), onde há simulação de condições de crescimento natural, além de ter vantagens por ser uma metodologia simples e barata, e com muito baixa concorrência bacteriana (Reid, 1989; Wane Li, 2010). Alguns autores argumentam que o mecanismo de cultura sólido pode ser apropriado para aumentar a atividade lignolítica e, conseqüentemente, o valor nutricional (Vijya e Reddy, 2011). O principal problema a este respeito é que os fungos precisam de períodos suficientes de tempo para crescer e realizar seus processos metabólicos, e por isso pode-se perder carboidratos que iriam fornecer o valor nutricional para incentivar o consumo; embora degradação da lignina é um processo exotérmico, degradar uma grama lignina requer igual quantidade de glicose (Van Kuijk et al., 2015).

A degradação da lignina também depende das condições e na presença de componentes bioquímicos no meio de cultura. A presença de nitrogênio é essencial como um componente na alimentação animal nutritivo, no entanto, resulta na diminuição da atividade ligninase (Kirk e Farrel, 1987; Reid, 1989). O carbono (Tuyen et al., 2013, Conesa et al., 2002, Janusz et al., 2013), o oxigênio (Isroi et al., 2011; Zadrazil et al., 1991) e a presença de metais pesados e compostos aromáticos (Raghuwanshi et al., 2014 ; Wan e Li., 2010) são igualmente importantes na degradação de lignina. A temperatura tem um papel chave no tratamento da biomassa para consumo animal, porque a atividade lignolítica é ótima a uma temperatura mais baixa do que a atividade celulolítica (Van Kuijk et al., 2015; Vijya e Reddy, 2011; Li e Wan, 2010). O pH para a atividade ótima tanto lignolítica como na celulolítica varia entre 5,0-7,0 (Vijya e Reddy, 2011).

O pré-tratamento de biomassa lignocelulósica tem finalidades diferentes, e cada finalidade requer um recurso de biomassa diferente. As origens de resíduos de plantas variam no que diz respeito à resistência à degradação por fungos, que depende da composição das subunidades de lignina. As unidades guaiacil degradam mais tarde do que as unidades siringil, que têm um potencial redox inferior a condensação e unidades de guaiacil (Burlat et al; 1998;

Martinez et al; 2001; Terrón et al., 1995). Em Skyba et al. (2013) determinou-se que as linhas de álamo alterado geneticamente ricos em siringilo exibiram o aumento de resistência na degradação de lignina em os fungos *Phanerochaete chrysosporium*, *Ceriporiopsis subvermispora* e *Trametes versicolor*, em desacordo com a teoria em dar resistência gerada pela subunidade guaiacil. A biomassa lignocelulósica a partir da mesma fonte nem sempre tem a mesma composição e estrutural, por conseguinte, a degradação também pode variar (Labuschagne et al., 2000; Arora e Sharma, 2010). É por isso que não é muito difícil estabelecer qual o tipo de resíduo presente em melhores condições para ser utilizados como ração animal, principalmente porque a maioria deles são escolhidos a partir da sua disponibilidade geográfica. Entre os empregados para estudos de resíduos agroindustriais para o aumento da digestibilidade por fungos da podridão branca são a cultura do arroz, trigo, cana de açúcar, palma de óleo, milho, nabo, bambu, cedro, cacau, abeto e o jacinto-de-água (Alemawor et al., 2009; Asiegbu et al., 1996, Hassim et al., 2012; Vijya e Reddy, 2010; Raghuwanshi et al., 2014; Bento et al., 2014; Tuyen et al., 2013; Mahini e Mahesh, 2013; Liang et al., 2010; Sharma e Arora, 2010; Zhao et al., 2015; Shrivastava et al., 2011; Mukherjee et al., 2004).

O desempenho da digestibilidade é estudado em termos de perda de peso seco dos materiais e a produção de gás, o que pode ser avaliado tanto in vivo como in vitro (Arora e Sharma, 2010). Além disso, o valor nutricional destes alimentos geralmente é determinado a partir dos valores de fibra insolúvel e solúvel (ácido e neutro), o teor de proteína bruta, matéria orgânica total, cinzas, etc, contido nos resíduos pré-tratados, sendo avaliado comumente com as metodologias descritas em AOAC (2005) e Van Soest (1991). Para serem destinados à alimentação animal, os tratamentos biológicos com fungos devem diminuir os valores de fibra em detergente ácido (especialmente lignina) e fibra em detergente neutro, aumentar os valores de proteína bruta e manter constante a porção de celulose. Alguns autores afirmam que há uma relação linear com respeito ao

aumento da degradação da lignina e digestibilidade e valor nutritivo do material vegetal (Agosín et al., 1986; Arora e Sharma, 2010; Cohen et al., 2002). Alguns trabalhos realizaramo tratamento de bagaço de cana-de-açúcar com *L. edodes* e *C. subvermispora* (Okano et al., 2006) e resíduos de madeira de cedro pré-tratados com *L. edodes* e *P. eryngii* (Okano et al., 2009 ; Okano et al., 2005).

Algumas espécies de fungos são capazes de crescer em substratos de baixa capacidade nutricional, tais como *Pleurotus ostreatus*, no entanto, outros como *L. edodes* tem uma alta demanda de oxigênio e requerem um substrato mais complexo para crescer. Os pré-tratamentos da biomassa com fungos demonstraram bons resultados no incremento do valor nutricional, no entanto, o baixo teor de proteínas continua a ser uma limitação (Van Kuijk et al., 2015). Se os fungos utilizados no tratamento não são utilizados para consumo humano e o substrato residual é utilizado na alimentação animal com toda a biomassa fúngica, poderia fornecer uma concentração de proteína mais elevada para produzir um composto alimentar mais nutritivo e de melhor digestão.

A produção simultânea de fungos e rações para alimentação animal poderia servir como um recurso para os pequenos produtores com a venda das partes frutíferas dos cogumelos, enquanto os substratos seriam usados como uma fonte de alimento para o gado (Bento et al., 2014). Assim, os benefícios econômicos seriam aumentados neste setor. No entanto, alguns autores esclareceram que a produção simultânea de fungos comestíveis e a biomassa delignificada não é fácil (Tsang, et al., 1987), e em termos de produção, para que haja um tratamento de sucesso, o processo deve ser terminada antes de os corpos de frutificação serem formados, de modo que a sincronização é essencial para o tratamento de biomassa lignocelulósica fúngica (Van Kuijk et al., 2015). Assim, a maioria dos estudos têm sido desenvolvidos sob abordagens de utilidade rigorosas e específicas, por exemplo, na produção de enzimas, obtendo-se a geração de biocombustíveis ou alimentos para animais.

Os processos para pré-tratamento biológico com fungos de podridão branca têm

sido objeto de vários métodos a fim de aumentar o seu desempenho (Dashtban et al., 2009; Okano et al., 2005; Okano et al., 2006). Uma das estratégias para melhorar o desempenho de geração resíduos de alimentos é a adição de enzimas para a degradação de compostos de difícil digestão, tais como taninos. Em Raghuvanshi et al. (2014), as tanases produzidas por *Penicillium charlesii* foram usadas para produzir um substrato livre de taninos em resíduo de trigo, para depois ser cultivadas cepas de *Ganoderma sp.*; encontrou-se uma concentração de 0,1% (w/w) que promoveu maior ação lignolítica, além de maior crescimento da estirpe, o menor grau de degradação da celulose e o aumento dos níveis de proteína (proteína total). Diz-se que o efeito de tanases promove a liberação de ácido gálico, importante para a nutrição animal. Em outro estudo foi adicionado álcool veratrílico à cultura de *S. commune* em resíduos de arroz, o que causou o aumento da liberação de enzimas ligninolíticas e menor teor de lignina (Vijya e Reddy, 2011). As culturas mistas também têm provado ser uma estratégia favorável a produção de enzimas ligninolíticas. Qui et al. (2007) usou uma cultura mista de *C. subvermispora* e *P. ostreatus*, gerando maior atividade enzimática lacase e peroxidase manganase em comparação as monoculturas. Em Qi-He et al. (2011) as culturas mistas com *Phlebia radiata* e *Dichotomus squalens* tiveram a maior atividade lacase, e a maior atividade LiP e MnP com *P. ostreatus* e *P. radiata*. Mas no entanto, em Dong et al. (2014) a monocultura de *D. squalens* tinha a maior atividade lacase em comparação à cultura mista com *Phlebia radiata*. As estirpes podem atuar em sinergia para produzir uma maior quantidade de ligninases no meio de cultura, no entanto, também é possível que exista um efeito antagonista entre as culturas e favorecer uma das cepas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS.

O pré-tratamento biológico da biomassa lignocelulósica tem sido desenvolvido extensamente com o uso de fungos, especialmente da podridão branca. Os mecanismos enzimáticos destes organismos disponibilizam uma grande riqueza energética

contida no material vegetal, pela degradação da lignina. Esta tecnologia tem muitas aplicações no setor industrial, e promete ser uma opção na produção de insumos para consumo animal. Os insumos gerados a partir de resíduos agroindustriais têm mostrado ser um potencial ingrediente alimentício com boa digestibilidade e alto valor nutritivo, além de ser uma forma barata, simples e de fácil acesso para a obtenção de alimentos, dando uma alternativa sustentável para grandes e pequenos produtores. Ainda há muitos questionamentos acerca dos mecanismos específicos envolvidos na degradação de lignina, mas na atualidade os estudos têm o enfoque no desenvolvimento de estratégias para a otimização e o incremento do rendimento dos tratamentos biológicos como fungos.

## REFERÊNCIAS

- AGOSIN, E., TOLLIER, M.T., BRILLOUET, J.M., THIVEND, P., ODIER, E. Fungal pretreatment of wheat straw: effects on the biodegradability of cell walls, structural polysaccharides, lignin and phenolic acids by rumen microorganisms. **J. Sci Food Agric**, n. 37, p. 97–106, 1986.
- ALEMAWOR, F., DZOGBEfiA, V.P., OLDHAM, J.H., ODDOYE, E.O.K. Effect of *Pleurotus ostreatus* fermentation on cocopodhusk composition: influence of fermentation period and Mn(2+) supplementation on the fermentation process. **Afr J Biotechnol**, p. 1950–1958, 2009
- AOAC. **Official Methods of Analysis**. 18th edição. Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, 2005
- ARORA, D.S. & SHARMA, R.K. Production of lignocellulolytic enzymes and enhancement of in vitro digestibility during solid state fermentation of wheat straw by *Phlebia floridensis*. **Bioresour Technol**, v.101, p. 9248–53, 2010.
- ASIEGBU, F.O., PATERSON, A., SMITH, J.E. The effects of co-fungal cultures and supplementation with carbohydrate adjuncts on lignin biodegradation and substrate digestibility. **World J Microbiol Biotechnol**, v.12, p. 273–9, 1996.
- BAK, J.S., KO, J.K., CHOI, I.G., PARK, Y.C., SEO, J.H., KIM, K.H. Fungal pretreatment of lignocellulose by *Phanerochaete chrysosporium* to produce ethanol from rice straw. **Biotechnol Bioeng**, v.104, p. 471–82, 2009.
- BENTO, C., SILVA, J., RODRIGUEZ, M., KASUYA, M. & MANTOVANI, H. Influence of White-rot fungi on chemical composition and in vitro digestibility of lignocellulosic agro-industrial residues. **African Journal of Microbiology Research**, v.8, n.28, p. 2724-2732, 2014.
- BURDSALL, H. Taxonomy of industrially important white-rot fungi. **Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry**, p. 259-272, 1998.
- BURLAT, V., RUEL, K. MARTINEZ, A.T., CAMARERO, S., HATAKKA, A., VARES, T., et al. The nature of lignin and its distribution in wheat straw affect the patterns of degradation by filamentous fungi. **7th International Conference on Biotechnology in the Pulp and Paper Industry**, v. 1, p. 75–78. 1998.
- CAVALLAZZI, J.R.P., BRITO, M.D.S., OLIVEIRA, M.G.D.A., VILLAS-BOAS, S.G., KASUYA, M.C.M. Lignocellulolytic enzymes profile of three *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler strains during cultivation on eucalyptus bark-based medium. **Food Agric Environ**, v. 2, p. 291–7. 2004.
- CHATURVEDI, V. & VERNA, P. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. **Biotechnol**, v. 3, p. 3:415–31, 2013.
- CHEMMES, C., SILVA, F., SOUZA, L., AZEVEDO, R. & CAMPOS, L. Estudo de métodos físico-químicos no pré-tratamento de resíduos lignocelulósicos para produção de etanol de segunda geração. **Seminário Estudantil de Produção Acadêmica**. 2013
- CHEN, H. **Biotechnology of Lignocellulose**. Chemical Industry Press. Springer: Washington. 2012
- CHEN, M., YAO, S., ZHANG, H. & LIANG, X. Purification and characterization of a versatile peroxidase from edible mushroom *Pleurotus eryngii*. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 18, p. 824-829, 2010.
- CHI, Y.Y. **Wood decay and its related strains**. Beijing: Science Press, 2003.
- CHI, Y., HATAKKA, A. & MAIJALA, P. Can co-culturing of two white-rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes? **International Bio deterioration And Biodegradation**, v. 59, p. 32-39, 2007.
- COHEN, L. Biotechnological application and potential of wood-degrading mushroom of the genus *Pleurotus*, **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.58, p. 582 – 594, 2002.



- COHEN, R., PERSKY, L., HADAR, Y. Biotechnology application and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 58, p.582–94, 2002.
- CONESA, A., PUNT, P.J., van den HONDEL, C. Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. **J Biotechnol**, v. 93, p. 143–58, 2002.
- COUTO, S., RATTO, M., DOMINGUEZ, A. & BONT, J. Physiological role of chlorinated ary alcohol biosynthesized de novo by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. Strain BOS55, **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 271-277, 1994.
- CULLEN, D. Recent advances on the molecular genetics of ligninolytic fungi. **J Biotechnol**, v. 53, p. 273–89, 1997.
- DASHTBAN, M., SCHRAFT, H., QIN, W.S. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. **Int J Biol Sci**, v. 5, p. 578–95, 2009.
- DASHTBAN, M., SCRAFT, H., SYED, T., QIN, W. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. **Int J Biochem Mol Biol**, p. 36–50, 2010.
- de SOUZA SILVA, C., DE MELO, I. & OLIVEIRA, P. Ligninolytic enzyme production by *Ganoderma* spp. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, p. 324-329, 2005.
- DIAS, A.A., FREITAS, G.S., MARQUES, G.S.M., SAMPAIO, A., FRAGA, I.S., RODRIGUES, M.A.M., et al. Enzymatic saccharification of biologically pre-treated wheat straw with white-rot fungi. **Bioresour Technol**, v. 101, p. 6045–50, 2010.
- DONG, Y.C., DAI, Y.N., XU, T.Y., CAI, J., CHEN, Q.H. Biodegradation of chestnut shell and lignin-modifying enzymes production by the white-rot fungi *Dichomitus squalens*, *Phlebia radiata*. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 37, n.5, p. 755-64, 2014.
- FUKUSHIMA, Y. & KIRK, T. Laccase component of the *Ceriporiopsis subvermispora* lignin-degrading system. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 3, p.872-876, 1995.
- HAMMEL, K., & CULLEN, D. Role of fungal peroxidases in biological ligninolysis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 1-7, 2008.
- HASSIM, H.A., LOURENÇO, M., GOH, Y.M., BAARS, J.J.P., FIEVEZ, V. Rumen degradation of oil palm fronds is improved through pre-digestion with white rot fungi but not through supplementation with yeast or enzymes. **Can J Anim Sci**, v.92, p. 79–87, 2012.
- HATAKKA, A. **Biodegradation of lignin**. In: Hofrichter, M., Steinbüchel, A. (Eds.), *Biopolymers. Biology, Chemistry, Biotechnology, Applications*, Vol. 1. Lignin, Humic Substances and Coal, Wiley-VCH, Weinheim, p. 129–180, 2001.
- HIGUCHI, T. Microbial degradation of lignin: role of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase. **Proc. Jpn. Acad. Ser B.**, v. 80, p. 204-2011, 2004.
- HOFRICHTER, M., ULLRICH, R., PECYNA, M.J., LIERS, C., LUNDELL, T. New and classic families of secreted fungal heme peroxidases. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 87, p. 871–97, 2010.
- ISROI, MILLATI, R., SYAMSIH, S., NIKLASSON, C., CAHYANTO, M., LUNDQUIST, K. & TAHERZADEH. Biological pretreatment of lignocelluloses with white-rot fungi and its applications: a review. **BioResources**, v. 6, n. 4, p. 1–36, 2011.
- JALC, D. **Straw enrichment for fodder production by fungi**. In: Kempken F, Bennet JW, editors. *The Mycota XI, agricultural applications*. Berlin: Springer-Verlag; p. 19–38, 2002.
- JANUSZ, G., KUCHARZYK, K.H., PAWLIK, A., STASZCZAK, M., PASZCZYNSKI, A.J. Fungal laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase: gene expression and regulation. **Enzyme Microb Technol**, v. 52, p. 1–12, 2013.
- KELLER F, HAMILTON J, NGUYEN Q. Microbial pretreatment of biomass. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 105, p. 27–41, 2003.
- KERSTEN, P. & CULLEN, D. Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 44, p.77-87, 2007.
- KIRK, T.K. & FARRELL R.L. Enzymatic combustion—the microbial degradation of lignin. **Annu Rev Microbiol**, v. 41, p. 465–505, 1987.
- KIRK, T. & MOORE, W. Removing lignin from wood with white-rot fungi and digestibility of resulting wood. **Wood Fiber Sci**, v. 4, p. 72–9, 1972.
- LABUSCHAGNE, P.M., EICKER, A., AVELING, T.A.S., DEMEILLON, S., SMITH, M.F. Influence of wheat cultivars on straw quality and *Pleurotus ostreatus* cultivation. **Bioresour Technol**, v. 71, p. 71–5, 2000.
- LARSSON, S, E., PALMQVIST, B., HAHN-HÄGERDAL, C., TENGBORG, K. STENBERG, G., ZACCHI & NILVEBRANT, N. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 24, n. 3-4, p. 151-159, 1999.

- LEONOWICZ, A., CHO, N., LUTEREK, J., WILKOLAZKA, A., WOJTAS-WASILEWSKA, M., MATUSZEWSKA, A., HOFRICHTER, M., WESENBERG, D. & ROGALSKI, J. Fungal laccase: properties and activity on lignin. **Journal of Basic Microbiology**, v. 41, n. 3-4, p. 185-227, 2001.
- LEONOWICZ, A., MATUSZEWSKA, A., LUTEREK, J., ZIEGENHAGEN, D., WOJTAS-WASILEWSKA, M., CHO, N.S., et al. Biodegradation of lignin by white rot fungi. **Fungal Genet Biol**, v. 27, p. 175–85, 1999.
- LEVINE, J.S. The MIT Press; Cambridge, Massachusetts, USA; **Biomass burning and global change**. Em: Levine, J.S. Remote sensing and inventory development and biomass burning in Africa, p. 35. 1996.
- LIANG, Y.S., YUAN, X.Z., ZENG, G.M., HU, C.L., ZHONG, H., HUANG, D.L. Biodelignification of rice Straw by Phanerochaete chrysosporium in the presence of dirhamnolipid. **Biodegradation**, v. 21, n. 6, p. 15–24, 2010.
- MAHESH, M.S. & MOHINI, M. Biological treatment of crop residues for ruminant feeding: a review. **Afr. J. Biotechnol**, v. 12, p. 4221-4231, 2013.
- MARTINEZ, A.T., CAMARERO, S., GUTIERREZ, A., BOCCHINI, P., GALLETI, G.C. Studies on wheat lignina degradation by Pleurotus species using analytical pyrolysis. **J Anal Appl Pyrolysis**, v. 58, p. 401–11, 2001.
- MEMBRILLO, I., SANCHEZ, C., MENESESM, FAVELA, E., LOERA, O. Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by Pleurotus ostreatus strains. **Bioresour Technol**, v. 99, 7842–7847, 2008.
- MESTER, T. & TIEN, M. Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants. **Int Biodeterior Biodegrad**, v. 46, p. 51–9, 2000.
- MOSIER, N., WYMAN, C.E., DALE, B., ELANDER, R., LEE, Y.Y., HOLTZAPPLE, M., et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. **Bioresour Technol**, v. 96, p. 673–86, 2005.
- MUKHERJEE, R. & NANDI, B. Improvement of in vitro digestibility through biological treatment of water hyacinth biomass by two Pleurotus species. **Int Biodeter Biodegr**, v. 53, p. 7–12, 2004.
- OKANO K, KITAGAWA M, SASAKI Y, WATANABE T. Conversion of Japanese red cedar (*Cryptomeria japonica*) into a feed for ruminants by white-rot basidiomycetes. **Anim Feed Sci Technol**, v.120, p. 235–43, 2005.
- OKANO, K.,<sup>1</sup> YUKO I,<sup>1</sup> MUHAMMAD, S.,<sup>2</sup> BAMBANG, P.,<sup>3</sup> TOMOYA, U. & TAKASHI, W. Comparison of in vitro digestibility and chemical composition among sugarcane bagasses treated by four white-rot fungi. **Animal Science Journal**, v. 77, p. 308–313, 2006.
- OKANO, K., OHKOSHI, N., NISHIYAMA, A., USAGAWA, T., KITAGAWA, A.M. Improving the nutritive value of madake bamboo, *Phyllostachys bambusoides*, for ruminants by culturing with the whiterot fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. **Anim Feed Sci Technol**, v. 152, p. 278–85, 2009.
- ORTIZ, I. & QUINTERO, R. Recent Advancements in Pretreatment Technologies of Biomass to Produce Bienergy. **Bioenergy Research: Advances and Applications**, p. 57 -69, 2014.
- PLACIDO, J. & CAPAREDA, J. Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 2, n. 23, p. 1-12, 2015.
- PALACIOS-ORUETA A, CHUVIECO E, PARRA A, CARMONA-MORENO C. Biomass burning emissions: a review of models using remote-sensing data. **Environ Monit Assess**. v. 104, p. 189–209, 2005.
- PALMER, J.M., EVANS, C.S. The enzymic degradation of lignin by white-rot fungi. **Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci**, v. 300, p. 293–303, 1983.
- PÉRIÉ, F. & GOLD, M. Manganese regulation of manganese peroxidase expression and lignin degradation by white rot fungus *Dichomitus squalens*. **Applied and environmental microbiology**, v. 57, n. 8, p. 2240-2245, 1991.
- QI-HE, C., KRUGUNER, S., HIRTH, T., RUPP, S. & ZIBEK, S. Co-cultured production of lignin-modifying enzymes with white-rot fungi. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 165, n. 2, p. 700-18, 2011.
- RAGHUWANSHI, S., MISRA, S., & SAXENA, R. Treatment of wheat straw using tannase and white-rot fungus to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 5, n.13, p. 1-8, 2014.
- RAHMAN, M.M., LOURENÇO, M., HASSIM, H.A., BAARS, J.J.P., SONNENBERG, A.S.M., CONE, J.W., et al. Improving ruminal degradability of oil palm fronds using white rot fungi. **Anim Feed Sci Technol**, v. 169, p. 157–66, 2011.
- RAJAKUMAR, S., GASKELL, J., CULLEN, D., LOBOS, S., KARAHANIAN, E., VICUNA, R.. Lip-like genes in *Phanerochaete sordida* and *Ceriporiopsis subvermispora*, white rot fungi with no detectable

- lignin peroxidase activity. **Appl Environ Microbiol**, v. 62, p.26-60, 1996.
- REID, I.D. Solid-state fermentations for biological delignification. **Enzyme Microb Technol**, v.11, p. 786–803, 1989.
- SARNKLONG, C., CONE, J.W., PELLIKAAN, W., HENDRIKS, W.H. Utilization of rice straw and different treatments to improve its feed value for ruminants: a review. **Asian Australas J Anim Sci**, v. 23, p. 680–92, 2010.
- SARKAR, N., GHOSH, S.K., BANNERJEE, S., AIKAT, K. Bioethanol production from agricultural wastes:an overview. **Renew Energy**,v.37, p. 19–27, 2012.
- SHARMA, R. & ARORA, D. Bioprocessing of wheat and paddy straw for their nutritional up-gradation. **Bioprocess Biosyst Eng**, v. 37, p. 1437-1445, 2014
- SHARMA, R. & ARORA, D. Solid state degradation of paddy straw by *Phlebia floridensis* in the presence of different supplements for improving its nutritive status. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 7, p. 990–996, 2010.
- SHI, J., CHINN, M., & SHARMASHIVAPPA, R. Microbial pretreatment of cotton stalks by solid state cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 6556-6564, 2008.
- SHI, J., SHARMA-SHIVAPPA, R.R., CHINN, M., HOWELL, N. Effect of microbial pretreatment on enzymatic hydrolysis and fermentation of cotton stalks for ethanol production. **Biomass Bioenerg**, v. 33. p. 88–96, 2009.
- SHRIVASTAVA, B., THAKUR, S., KHASA, Y.P., GUPTE, A., PUNIYA, A.K., KUHAD, R.C. White-rot fungal conversion of wheat straw to energy rich cattle feed. **Biodegradation**, v. 22, p. 823–31, 2011.
- SKYBA, O., DOUGLAS, C.J., MANSFIELD, S.D. Syringyl-rich lignin renders poplars more resistant to degradation by wood decay fungi. **Appl Environ Microbiol**, v.79, p. 2560–71, 2013.
- STAJIĆ, M., PERSKY, L., FRIESEM, D., HADAR, Y., WASSER, S.P., NEVO E, et al. Effect of different carbon and nitrogen sources on laccase and peroxidases production by selected *Pleurotus* species. **Enzyme Microb Technol**, v. 38, p. 65–73, 2006.
- TERRÓN, M.C., FIDALGO, M.L., GALLETTI, G.C., GONZÁLEZ, A.E. Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of milled wood lignin of two Chilean woods naturally decayed by *Ganoderma australe*, *Phlebia chrysocrea* and a brown-rot fungus. **J Anal Appl Pyrolysis**, v. 33, p. 61–75, 1995.
- TSANG, L.J., REID, I.D., COXWORTH, E.C. Delignification of wheat straw by *Pleurotus* spp. Under mushroom growing conditions. **Appl Environ Microbiol**, v.53, p.1304–6, 1987.
- TUYEN, D.V., PHUONG, H.N., CONE, J.W., BAARS, J.J.P., SONNENBERG, A.S.M., HENDRIKSW, H. Effect of fungal treatments of fibrous agricultural by-products on chemical composition and in vitro rumen fermentation and methane production. **Bioresour Technol**, v.129, p. 256–63, 2013.
- VALMASEDA, M., ALMENDROS, G., MARTINEZ, A.T. Chemical transformation of wheat straw constituents after solid-state fermentation with selected lignocellulose-degrading fungi. **Biomass Bioenergy**, v.1, p. 261–6, 1991.
- van KUIJK, S.J.A., A.S.M. SONNENBERG, J.J.P. BAARS, W.H. HENDRIKS, CONE, J.W. Fungal treated lignocellulosic biomass as ruminant feed ingredient: A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 191–202, 2015.
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B. AND LEWIS, B.A. Methods of dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. Dairy Sci**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VIJYA, CH., REDDY, R., MALIK, A. Bio-delignification ability of locally available edible mushrooms for the biological treatment of crop residues. **Indian Journal of Biotechnology**, v. 11, p. 191-196, 2012.
- WAN, C. & LI, Y. Microbial pretreatment of corn stover with *Ceriporiopsis subvermispora* for enzymatic hydrolysis and ethanol production. **Bioresour Technol**,v. 101, p. 6398–403, 2010.
- WONG, D.W.S. Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. **Appl Biochem Biotech**, v. 157, p. 174–209, 2009.
- XU, F. CHEN., H. & LI, Z. Solid-state production of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP) by *Phanerochaete chrysosporium* using steam-exploded straw as substrate, **Bioresource Technology**, v. 80, p. 149-151, 2001.
- YU J, ZHANG J, HE J, LIU Z, YU Z. Combinations of mild physical or chemical pretreatment with biological pretreatment for enzymatic hydrolysis of rice hull. **Bioresour Technol**, v. 100, p.903–908, 2009.
- ZHANG, S., MARECHAL, F. GASSNER, M., PERIN-LEVASSEUE, Z, QI, W., REN, Z., YAN, Y., AND FAVRAT, D. Porcess modeling intregation of fuel etanol production from lignocellulosic biomass

based on double acid hydrolysis. **Energ. Fuel**, v. 23, n. 3, p. 1759-1765, 2009.

ZHAO, X., JIANMING, G., SHAN, Z., KEHUI, O., XIAOZHEN, S., CHUANBIAN F., LANJIAO, X., MINGREN, Q. Effect of Fungal Treatments of Rape Straw on Chemical Composition and in vitro Rumen Fermentation Characteristics. **BioSources**, v. 10, n.1, p. 622-637, 2015.

ZHOU, S., INGRAM, L.O. Synergistic hydrolysis of carboxymethyl cellulose and acid-swollen cellulose by two endoglucanases (CelZ and CelY) from *Erwinia chrysanthemi*. **J Bacteriol**, v. 182, n.20. p. 5676-82, 2000.

ZADRAZIL, F. GALLETI, G., PICCAGLIA, R., CHIAVARI, G. & FRANCIOSO, O. Influence of oxygen and carbon dioxide on cell wall degradation by White-rot fungi. **Animal Feed Science and Technology**, v. 32, p. 197-142,1991.