

JOSÉ RENATO PEREIRA CAVALLAZZI

**ENZIMAS LIGNINOCELULOLÍTICAS DE *Lentinula edodes*
(Berk.) Pegler CULTIVADO EM SUBSTRATO À BASE DE
CASCA DE EUCALIPTO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, para a obtenção do título de “Doctor Scientiae”.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003**

RESUMO

CAVALLAZZI, José Renato Pereira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Dezembro de 2003. **Enzimas ligninocelulolíticas de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler cultivado em substrato à base de casca de eucalipto.** Orientadora: Maria Catarina Megumi Kasuya. Conselheiros: Arnaldo Chaer Borges e Marcos Rogério Tótola.

Lentinula edodes (Berk.) Pegler é um fungo incluído entre os causadores da podridão branca, que pode ser cultivado em toras de madeira maciça de eucalipto ou toras artificiais, formadas por casca de eucalipto, um resíduo ligninocelulósico abundante em indústrias de papel e celulose no Brasil. Este trabalho teve como objetivo determinar o perfil das enzimas ligninocelulolíticas de três isolados de *L. edodes*, UFV52, UFV52 e UFV77, crescidos em substrato a base de casca de eucalipto e, também, investigar os efeitos da adição ao meio de crescimento desse fungo de compostos que aumentam a atividade ou síntese de lacase, visando a melhoria da eficiência no processo de degradação da lignina e celulose presentes no substrato. O monitoramento semanal das atividades durante 75 dias de crescimento em substrato constituído por 80% de casca de eucalipto e 20% de farelo de arroz, adicionado de CaCO₃ e CaSO₄, demonstrou a existência da síntese de lacase, manganês peroxidase, celulase e xilanase, mas não de lignina peroxidase. O isolado UFV52 foi o que apresentou maior atividade de lacase, e para ele determinou-

se que as concentrações de 2,6 mM de N, como NH_4NO_3 e de 250 μM de Cu, como CuSO_4 , em meio de cultura líquido foram as que propiciaram a maior atividade desta enzima. A atividade de lacase foi três vezes maior do que a do tratamento controle em micélio crescido em meio de cultura adicionado de tartarato de amônia (55 μM), sem contudo aumentar a concentração de proteína solúvel. A vanilina (1 mM) e o ácido 3 hidróxi benzóico (1 mM) aumentaram a degradação da lignina e celulose, sem, contudo, modificar a atividade de lacase. O padrão eletroforético da lacase demonstrou que o efeito do tartarato não foi o de indução de novas isoformas, mas sim o de aumentar a atividade da enzima presente. O aumento na atividade da lacase e na eficiência de utilização do substrato pelo *L. edodes* UFV52 não redundou em indução de corpos de frutificação do fungo. Assim, para a produção do fungo comestível há necessidade de se selecionar isolados de *L. edodes* adaptados ao cultivo em toras artificiais a base de casca de eucalipto.

ABSTRACT

CAVALLAZZI, José Renato Pereira, D.S., Universidade Federal de Viçosa, December of 2003. **Lignocellulolytic enzymes of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler cultivated in an eucalypt bark - based medium.** Adviser: Maria Catarina Megumi Kasuya. Committee members: Arnaldo Chaer Borges and Marcos Rogério Tótola.

Lentinula edodes (Berk.) Pegler belongs to the white rot fungi group, and can be cultivated in wood logs of eucalypt or artificial logs, made with eucalypt bark, a lignocellulosic residue abundant in the paper and pulp industry in Brazil. This study aimed to determine the lignocellulolytic enzymatic profile of three *L. edodes* isolates UFV52, UFV52 and UFV77 cultivated in eucalypt bark - based substrate and also to investigate the effects of the addition of compounds to the culture medium in increasing the activity or synthesis of laccase, in order to increase the efficiency in the lignin and cellulose degradation process. The enzymatic assays were performed weekly for 75 days in substrate made from 80% eucalypt bark and 20% rice bran, with the addition of CaCO₃ and CaSO₄, and laccase, manganese peroxidase, xylanase and cellulase, but not lignin peroxidase, were determined. The isolate UFV52 presented the highest laccase activity, and, in liquid medium, the N (NH₄NO₃) and Cu (CuSO₄) concentrations that provided the highest laccase activity were 2.6 mM and 250 μM, respectively. Laccase activity were three time higher in medium receiving

ammonium tartrate (55 μM), but no increase in soluble protein level were observed. Vanillin (1 mM) and 3 hydroxy benzoic acid (1 mM) increased lignin and cellulose degradation without modifying laccase activity. The electrophoretic pattern of laccase demonstrated that ammonium tartrate did not induce new isoforms, but enhanced the activity of the constitutive form. The increase in laccase activity and in the efficiency of utilization of the substrate by *L. edodes* UFV52 did not induce mushrooms formation. In this way, for the mushroom production in eucalypt bark-based artificial logs there must be selected adapted *L. edodes* isolates.