

Efeito dos moduladores sobre atividade de holocelulases em sistema de cocultivo fungico:
Trichoderma reesei RUT-C30 e *Pleurotus citrinopileatus*

Vieira, R.I.M¹; PEIXOTO, A.S.¹; GOMES, T.G.¹; TODOROV, C.R.M.¹; CASTRO, L.G¹; Filho, E. X. F²; MILLER, R.N.G¹.

¹Laboratório de Interação Planta-Praga; Departamento de Biologia Celular; Instituto de Ciências Biológicas; Universidade de Brasília

²Laboratório de Enzimologia; Departamento de Biologia Celular; Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília

Palavras-chave: Bioeconomia; consorcio fúngico; CAZymes; Ascomycetos, Basidiomicetos.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de etanol, e essa produção gera resíduos como o bagaço de cana, que apresenta grande potencial para estudos em biorefinaria. Esse resíduo contém polissacarídeos da parede celular vegetal, que podem ser decompostas para liberar açúcares fermentáveis e convertê-los em bioprodutos, como o etanol de segunda geração. Fungos dos filos *Ascomycota* e *Basidiomycota* são indicados para esse processo por serem decompositores eficientes e produtores de enzimas ativas em carboidratos (CAZymes), facilitando o acesso aos açúcares. Entretanto, um único fungo não possui todo o arsenal enzimático necessário para a degradação completa dos compostos do bagaço de cana e pode produzir metabólitos indesejados que afetam o crescimento e a expressão gênica de interesse. Dessa forma, o consórcio de dois ou mais fungos, torna a degradação mais eficiente, além de aumentar a produção de metabólitos secundários, biomassa e novos compostos bioativos. A adição de moduladores externos, que atuam nas vias de sinalização celular, pode melhorar a atividade enzimática, promover mais estabilidade no crescimento dos fungos, inibir a formação de compostos indesejados e aumentar a expressão de genes que regulam a produção de enzimas. Esses moduladores também impulsionam o crescimento, a produção de biomassa e a produção de enzimas específicas. Neste trabalho, investigou-se a associação dos fungos *Trichoderma reesei* RUT-C30 e *Pleurotus citrinopileatus* na degradação enzimática do bagaço de cana, com a adição de moduladores externos. Os fungos foram cultivados em meio mínimo líquido, utilizando o bagaço de cana como única fonte de carbono. Foram realizados monocultivos e cocultivos, com e sem a adição de cloreto de manganês (MnCl₂) e cloreto de cálcio (CaCl₂). Amostras foram coletadas ao longo de nove dias e uma curva de indução foi gerada a partir das atividades enzimáticas (carboximetilcelulase ou CMCase, mananase, pectinase e xilanase) durante esse período. O modulador MnCl₂ elevou todas as atividades enzimáticas nos diferentes sistemas de cultivo, com pico de atividade entre o sexto e o oitavo dia. As enzimas CMCase e pectinase obtiveram destaque

no sétimo dia: no cultivo de *T. reesei*, a atividade da CMCase aumentou de 0,44 para 0,78 UI/mL e a da pectinase de 0,20 para 0,48 UI/mL; no cocultivo, os valores subiram de 0,44 para 0,63 UI/mL e de 0,30 para 0,52 UI/mL, respectivamente. Em contrapartida, a adição de CaCl₂ teve efeito oposto em quase todas as atividades enzimáticas, resultando em reduções ou nenhuma diferença significativa, com exceção da pectinase, que teve aumento de atividade nos dias 3, 7, 8 e 9. A CMCase foi a mais afetada: no sexto dia, tanto *T. reesei* quanto o cocultivo apresentaram atividade de 0,55 UI/mL sem o modulador, caindo para 0,44 e 0,45 UI/mL, respectivamente. A aplicação de moduladores externos em cocultivos fúngicos é inovadora e precisa ser explorada, pois demonstra potencial para alterar a produção enzimática e permitir a reutilização de resíduos agroindustriais. Os resultados deste trabalho poderão embasar análises ômicas, como transcriptômica e proteômica, revelando quais genes e proteínas têm sua expressão aumentada na presença dos moduladores, estabelecendo um modelo de produção eficiente.

BENITO-VAQUERIZO, S. et al. **Model-driven approach for the production of butyrate from CO₂/H₂ by a novel co-culture of *C. autoethanogenum* and *C. beijerinckii***. *Frontiers in Microbiology*, 22 dez. 2022. Disponível em: https://gitlab.com/wurssb/Modelling/coculture_cacb.

BROWN, J. L. et al. Co-cultivation of anaerobic fungi with *Clostridium acetobutylicum* bolsters butyrate and butanol production from cellulose and lignocellulose. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 49, n. 6, 1 nov. 2022.

HANS, M. et al. Production of first- and second-generation ethanol for use in alcohol-based hand sanitizers and disinfectants in India. **Biomass Conversion And Biorefinery**, v. 13, n. 9, 27 maio 2021. Springer Science and Business Media LLC.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção de Cana-de-açúcar: Brasil**. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cana-de-acucar/br>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LIU, Yi-Nan et al. Mining microbial resources from water. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 191, p. 106883, 2023.

MITSUHARA, A. T. **Revisão sobre o potencial de produção de etanol de segunda geração a partir da palha de cana de açúcar**. Trabalho de conclusão (bacharelado)—Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2021.

RAHMADHANI, N.; ASTUTI, R. I.; MERYANDINI, A. Ethanol Productivity of Ethanol-Tolerant Mutant Strain *Pichia kudriavzevii* R-T3 in Monoculture and Co-culture Fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. **HAYATI Journal of Biosciences**, v. 29, n. 4, p. 435–444, 1 jul. 2022.

SELEGATO, Denise M.; CASTRO-GAMBOA, Ian. Enhancing chemical and biological diversity by co-cultivation. **Frontiers in microbiology**, v. 14, p. 1117559, 2023.

União Nacional da Bioenergia (UDOP). **Brasil Amplia a Produção de Açúcar e Reduz Déficit Global**. 23/11/2023. Disponível em: <https://www.udop.com.br/noticia/2023/11/23/brasil-amplia-a-producao-de-acucar-e-reduz-deficit-global.html>. Acesso em: 10 jan. 2024.

VIDAL, M. de F. **Agroindústria: etanol**. Caderno Setorial ETENE. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 8, n.306, out. 2023.

ZHANG, Jianfeng et al. Enhanced biodegradation of phenol by microbial collaboration: Resistance, metabolite utilization, and pH stabilization. **Environmental Research**, v. 238, p. 117269, 2023.