



## **Efeito do pH na atividade de lacase e na descoloração de corantes industriais por extrato enzimático de *Panus lecomtei***

Ítala Freire de Araújo<sup>1</sup>, Jordane Pimentel Nóbrega<sup>2</sup>, José Renato Pereira Cavallazzi<sup>3</sup>, Aleksander Westphal Muniz<sup>4</sup>, Ruby Vargas-Isla<sup>5</sup>, Noemia Kazue Ishikawa<sup>6</sup>

### **Resumo**

Corantes sintéticos são utilizados em uma ampla gama de atividades industriais e sua liberação no meio ambiente pode ocasionar graves desequilíbrios ecológicos. Tentativas de despoluição de locais contaminados utilizando métodos físicos e químicos não têm gerado resultados satisfatórios. Os fungos de podridão branca sintetizam enzimas ligninolíticas como lacases, manganês peroxidase e lignina peroxidase, que são capazes de degradar a lignina presente em fibras vegetais. Estas enzimas, especialmente as lacases, são aplicadas em uma variedade de processos industriais e biotecnológicos, haja vista sua inespecificidade e capacidade de oxidar uma ampla gama de compostos fenólicos e não fenólicos. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da variação do pH na atividade de lacase e na descoloração de corantes industriais por um extrato enzimático do fungo de podridão branca *Panus lecomtei* cultivado em meio líquido. Os corantes utilizados foram: Remazol Brilliant Blue R (RBBR), Acid Red 1 (AR1) e Reactive Black 4 (RB4). O isolado foi cultivado em meio batata dextrose por 20 dias e amostras do meio líquido foram coletadas a cada cinco dias de cultivo. Foram determinadas atividade de lacase e a descoloração da solução de cada um dos três corantes industriais em pH 4,5, 5,0 e 5,5. A atividade máxima de lacase foi observada em pH 4,5 com extrato bruto de 20 dias de crescimento, atingindo 632,2 UI/L. Todos os corantes foram mais descoloridos em pH 4,5. A maior descoloração (40,14%) foi obtida para o corante RBBR utilizando-se extrato de 20 dias. Os corantes da classe das antraquinonas (RBBR e RB4) foram mais descoloridos que o corante da classe azo (AR1). O isolado *P. lecomtei* utilizado nesta investigação demonstrou potencial de utilização em processos de biorremediação.

**Palavras-chave:** fungos de podridão branca, biorremediação, enzimas ligninolíticas.

**The effect of pH on laccase activity and industrial dyes discoloration by enzymatic extract of *Panus lecomtei*.** Synthetic dyes are used on a vast range of industrial activities and its release on environment may cause serious ecological imbalances. Attempts to depollute contaminated places using physical and chemical methods have not achieved satisfactory results. White rot fungi synthesize enzymes such as laccase, manganese peroxidase and lignin peroxidase which can degrade the lignin in plant fiber. These enzymes, specially laccases, are applied in a wide range of industrial and biotechnological processes, since they are not specific and are able to oxidize phenolic and nonphenolic compounds. The aim of this work was to investigate the effect of pH on the laccase activity and on the discoloration of industrial dyes by a crude enzymatic extract of the white rot fungus *Panus lecomtei* cultivated in liquid medium. The dyes used in this investigation were: Remazol Brilliant Blue R (RBBR); Acid Red 1 (AR1) and Reactive Black 4 (RB4). The isolate was cultivated in potato dextrose medium for 20 days and samples from the liquid medium were collected each five days. Laccase activity and dyes discoloration were determined in pH 4.5, 5.0 and 5.5. The highest laccase activity was observed

<sup>1</sup> Bolsista PIBIC, Lab. Microbiologia Ambiental, ICB/UFAM, [italafreire09@gmail.com](mailto:italafreire09@gmail.com)

<sup>2</sup> Bolsista PIBIC/CNPq, Lab. Microbiologia Ambiental, ICB/UFAM, [jordane.nobrega@gmail.com](mailto:jordane.nobrega@gmail.com)

<sup>3</sup> Prof. UFAM/ICB, Manaus, AM, [jrcavallazzi@yahoo.com.br](mailto:jrcavallazzi@yahoo.com.br)

<sup>4</sup> Pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, [aleksander.muniz@embrapa.br](mailto:aleksander.muniz@embrapa.br)

<sup>5</sup> Bolsista DTI/INPA, Coordenação de Biodiversidade, Manaus, AM, [rubbyvar9@gmail.com](mailto:rubbyvar9@gmail.com)

<sup>6</sup> Pesquisadora INPA, Coordenação de Biodiversidade, Manaus, AM, [noemia@inpa.gov.br](mailto:noemia@inpa.gov.br)



at pH 4.5 using crude extract after 20 days of growth reaching 632.2 IU/L. All dyes were more decolorized at pH 4.5. RBBR was the dye which presented the highest discoloration (40.14%) using 20-day crude extract. The anthraquinone dyes (RBBR and RB4) were more decolorized than the azo dye (AR1). The *P. lecomtei* isolate used on this investigation showed potential to be used in bioremediation processes.

**Keywords:** white rot fungi, bioremediation, ligninolytic enzymes.

## 1. Introdução

Os corantes sintéticos são aplicados em várias indústrias, incluindo têxtil, papel e celulose, farmacêutica e cosmética, entre outras. No entanto, devido à ineficiência durante os processos industriais uma parte é descartada em cursos d'água causando grave contaminação ambiental (McMullan et al., 2001). Em ecossistemas aquáticos estes corantes mudam a coloração da água e interferem diretamente na fotossíntese o que, por sua vez, causa prejuízo em toda a cadeia alimentar. Métodos físicos e químicos como adsorção e precipitação têm sido utilizados na tentativa de degradar tais poluentes, mas os resultados não têm sido promissores (Robinson et al., 2001). Dessa forma, faz-se necessário encontrar soluções mais eficientes e menos custosas que ao mesmo tempo sejam ecologicamente amigáveis para a descontaminação de áreas afetadas por essas substâncias.

Nesse contexto os fungos de podridão branca podem ser uma opção viável. Estes organismos desempenham um papel chave na ciclagem da matéria orgânica de origem vegetal, pois são os únicos capazes de mineralizar a lignina (Sanchez, 2009) como resultado direto da ação de enzimas inespecíficas que atuam na fibra vegetal de modo a agir sobre esta substância, considerada de difícil degradação por sua estrutura química complexa e heterogênea. As enzimas que fazem parte do complexo ligninolítico destes organismos incluem lacase, lignina peroxidase, manganês peroxidase e peroxidase versátil, entre outras (Vrsanska et al., 2016). Investigações demonstram que, além da lignina, estas enzimas são capazes de oxidar um vasto leque de substâncias, dentre as quais se encontram

muitos poluentes ambientais (Ottoni et al., 2013; Rivera-Hoyos et al., 2013).

As lacases (*benzenediol: oxygen oxidoreductases*, EC 1.10.3.2) são polifenol-oxidases que têm apresentado potencial de utilização em uma variedade de aplicações, pois são capazes de oxidar compostos aromáticos e não aromáticos através de um mecanismo de transferência de um elétron utilizando oxigênio como aceptor, o qual é reduzido à água por quatro elétrons (Canas e Camarero, 2010). As lacases são oxidases multicobre por tipicamente apresentarem quatro átomos de cobre em três diferentes sítios da molécula. Um desses sítios (T1 ou *Type 1*) é responsável pela cor azul da enzima, enquanto os outros dois (T2 e T3) atuam nas reações de catálise com os substratos (Dwivedi et al, 2011; Senthivelan et al., 2016).

As lacases são amplamente distribuídas na natureza, e muitas espécies de micro-organismos, incluindo bactérias e fungos, bem como plantas e insetos são capazes de sintetizá-las (Couto e Herrera, 2006). No entanto, a maior parte das lacases isoladas e estudadas é sintetizada por fungos (Thurston, 1994), e dentre estes os fungos de podridão branca sintetizam estas enzimas em maiores quantidades as quais, além disso, apresentam características como maior estabilidade a fatores como pH e temperatura, além de apresentar um maior potencial redox, o que indica uma ampla gama de substratos oxidáveis (Bibi et al., 2011). Dessa forma, estas enzimas são capazes de degradar hidrocarbonetos aromáticos (Chang et al., 2016), compostos fenólicos (Justino et al., 2010) e agrotóxicos (Zeng et al., 2017), entre outros, além de terem potencial de utilização em processos como biopolpação,



destoxificação de poluentes ambientais, clareamento de polpa de celulose e regeneração de efluentes (Eggert et al., 1997; Srebotnik e Hammel, 2000; Mayer e Staples, 2002; Jurado et al., 2009; Zhuo et al., 2011).

Outra aplicação do sistema enzimático dos fungos de podridão branca é a de descolorir corantes industriais (Velic et al., 2017). Estima-se que mais de 100.000 diferentes tipos de corantes industriais sejam utilizados em muitas aplicações, como na indústria têxtil, de papel e celulose, de alimentos e de fármacos (Sumandono et al., 2015). Durante os processos de coloração um volume significativo dessas substâncias é liberado no meio ambiente na forma de efluentes, e pesquisas são desenvolvidas de modo a utilizar enzimas ligninolíticas para a descoloração desses compostos (Singh, 2004).

Em 2002 foi detectada pela primeira vez atividade de lacase em *Panus lecomtei* (Fr.) Corner (= *P. rudis* Fr.; *Lentinus strigosus* (Schwein.) Fr.), que demonstrou produzir esta enzima em grandes quantidades (Zhang et al., 2002). Em 2012 foi proposto um novo nome *P. neostrigosus* Drechsler-Santos & Wartchow para *L. strigosus*. Portanto, de acordo com Vargas-Isla et al. (2015) o nome *P. lecomtei* tem prioridade sobre *P. neostrigosus*, sendo este último um sinônimo *P. lecomtei*. Este basidiomiceto já foi descrito em várias regiões do Brasil, inclusive na Amazônia (Pegler, 1983), onde é utilizado como alimento por indígenas Yanomamis (Prance, 1984; Ishikawa et al., 2012; Sanuma et al., 2016). Zhang et al. (2006) demonstraram que a lacase sintetizada por *P. lecomtei* exibiu excelente capacidade de descoloração de corantes azo e indigo, indicando potencial de utilização em aplicações ambientais e biotecnológicas.

Até onde temos conhecimento não há no Brasil nenhuma investigação sobre a produção de enzimas ligninolíticas por *P. lecomtei* bem como acerca do seu potencial para degradar corantes industriais. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi cultivar *P. lecomtei* em meio líquido e utilizar o

extrato enzimático para determinar a atividade de lacase e para investigar seu potencial de descoloração de corantes industriais.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Isolado fúngico

O isolado de *P. lecomtei* utilizado neste trabalho foi obtido 11/05/2013 a partir de madeira em decomposição no Centro de Pesquisas e Estudos Ambientais do Amazonas (CEPEAM; 3°06'07.0"S 60°01'30.0"W), localizado na região de Manaus (AM). Este material foi identificado pelas características morfológicas (Vargas-Isla et al., 2015) utilizando microscópio Leica DME. Basidiocarpos foram coletados, acondicionados em recipientes e levados para isolamento em laboratório. No laboratório fragmentos dos basidiocarpos (5 x 5 mm) foram assepticamente obtidos e submetidos a desinfecção superficial por imersão em álcool 70% por 30 segundos, em hipoclorito de sódio 2% por 2 minutos e depois lavados em água esterilizada por duas vezes. Os fragmentos foram depositados em placas de Petri contendo meio batata dextrose ágar (BDA), incubados a 35 °C e repicados até a obtenção de cultura pura. O isolado foi mantido através de sucessivas repicagens sempre que necessário em meio AEM e armazenado em refrigerador (5 °C).

### 2.2. Corantes

Neste estudo foram utilizados três corantes (Tabela 1) utilizados pela indústria têxtil: Remazol Brilliant Blue R (RBBR, Sigma); Acid Red 1 (AR1, Aldrich) e Reactive Black 4 (RB4, Sigma-Aldrich). Os corantes RBBR e RB4 pertencem à classe das antraquinonas, enquanto o corante RB4 pertence à classe dos corantes azo.

### 2.3. Cultivo em meio líquido e coleta de amostras

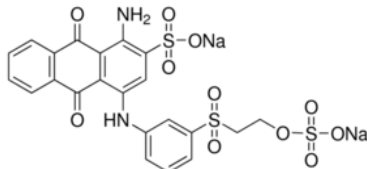
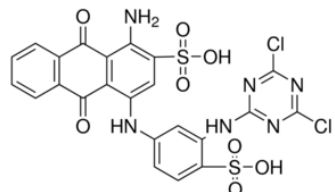
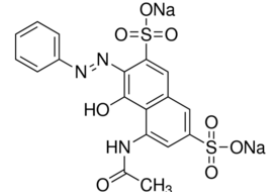
O isolado foi inicialmente cultivado em meio BDA em estufa a 35 °C na ausência de luz. Após 10 dias de cultivo discos (8mm diam.) de meio de cultura

contendo micélio da borda das colônias foram assepticamente coletados e transferidos para Erlenmeyers de 125mL contendo 50mL de meio de cultura caldo batata dextrose (pH 5,3) acrescido de MnSO<sub>4</sub> (0,5g/L) e CuSO<sub>4</sub> (250µM). As culturas foram incubadas a 35 °C na ausência de luz e a cada cinco dias durante 20 dias uma amostra de meio de cultura foi retirada para os ensaios enzimáticos e de descoloração. Após coletadas as amostras foram filtradas para a separação das células e congeladas (-5 °C) até sua utilização. Ao final dos 20 dias de cultivo o micélio foi coletado para a determinação da massa seca. O experimento foi realizado com três repetições.

#### 2.4. Ensaio enzimático

A atividade de lacase foi determinada pela oxidação de 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6-sulfonato, ABTS) a 37 °C de acordo com Buswell et al. (1995). A mistura de reação (1 mL) continha 600 µL de extrato enzimático, 300 µL de tampão acetato de sódio (pH 4,5, 5,0 ou 5,5; 0,1 M) e 100 µL de solução de ABTS (1 mM). A oxidação foi determinada pelo aumento na absorbância a 420 nm ( $\epsilon_{420} = 36000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de oxidar um µmol de ABTS por minuto.

**Tabela 1.** Nome, classificação, e peso molecular e estrutura molecular de corantes utilizados.

Nome	Classificação	Peso Molecular	Estrutura Molecular
RBBR	antraquinona	626,54	
RB4	antraquinona	637,43	
AR1	azo	509,42	

#### 2.5. Ensaios de descoloração

Nos ensaios de descoloração a mistura de reação continha 600µL de extrato, 300µL de tampão acetato de sódio (0,1M; pH 4,5, 5,0 ou 5,5) e 100µL de solução do respectivo corante (50mg/L). A descoloração foi monitorada pela diminuição da absorbância (nm) de cada um dos corantes (RBBR - 592, RB4 - 595 e AR1 - 506) em espectrofotômetro por uma hora. A descoloração foi calculada da seguinte forma:

$$\text{Descoloração (\%)} = 100 - \left( \frac{100 * ABSf}{ABSi} \right)$$

Em que:

**ABS<sub>i</sub>** = absorbância inicial

**ABS<sub>f</sub>** = absorbância final

#### 2.6. Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (Fisher, 1925) e ao teste de separação de médias de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) (Scott e Knott, 1974).

As análises foram realizadas com o pacote ExpDes (Ferreira et al., 2014) no programa R.

### 3. Resultados e Discussão

Durante os 20 dias de incubação o isolado fúngico utilizado neste estudo cresceu normalmente no meio de cultura líquido (Figura 1). Foi observado um crescimento mais rápido entre 5 e 10 dias, que diminuiu no intervalo seguinte e tornou-se ainda menor após 15 dias de cultivo. No 15º dia após a inoculação em meio de cultura a média de massa seca de micélio era de 0,115g e no 20º dia o valor foi de apenas 0,117g, sinalizando a iminência da entrada do organismo na fase estacionária de crescimento.

A atividade de lacase aumentou significativamente durante o crescimento do fungo e não diminuiu mesmo com a diminuição do crescimento do organismo, atingindo o pico aos 20 dias de cultivo em todos os níveis de pH testados (Figura 2). A atividade (UI/L) máxima foi registrada em pH 4,5 (632,2), em pH 5,0 atingiu um valor intermediário (440,9) e a mínima ocorreu em pH 5,5 (259,4), mas sem diferenças estatisticamente significativas (Tabela 2). A curva ascendente exibida no gráfico sugere que o tempo de cultivo do isolado neste

experimento não foi suficiente para atingir o pico máximo de atividade de lacase

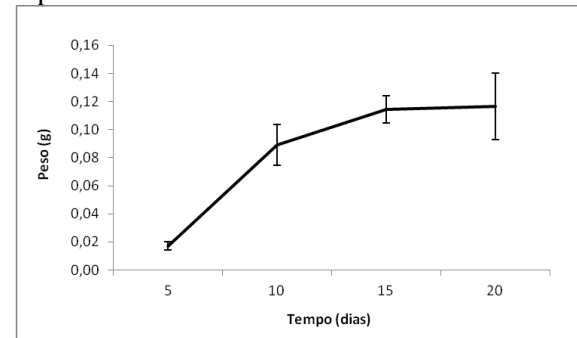


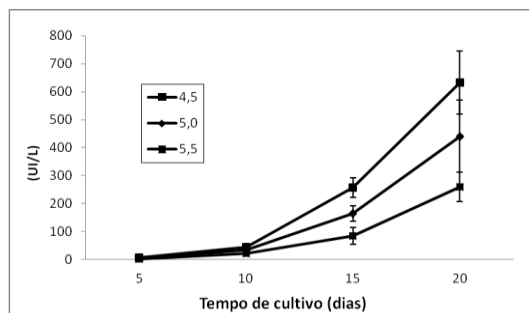
Figura 1. Média de massa seca do micélio de *Panus lecomtei* cultivado em meio batata dextrose.

Similarmente a outros estudos, a lacase de *P. lecomtei* mostrou uma tendência de maior atividade em níveis de pH mais baixos. Zhang et al. (2006) cultivaram um isolado de *P. lecomtei* em meio líquido e obtiveram uma lacase que, após purificação, apresentou atividade máxima em pH 3,5. Resultados semelhantes foram encontrados em pesquisas com lacases produzidas por diferentes espécies de fungos degradadores de madeira, como *Trametes trogii* Berk., que apresentou pH ótimo 3,0 (Yan et al., 2014) e 2,0 – 4,5 (Ai et al., 2015) e também *Trametes* sp., cuja faixa ótima de atividade ficou entre 2,2 e 3,4 (Ling et al., 2015).

**Tabela 2.** Resumo do teste Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) para atividade de lacase e descoloração de RBBR, RB4 e AR1 com extrato de 20 dias de cultivo de *Panus lecomtei*.

pH	Atividade de lacase (UI/L)	Porcentagem de descoloração		
		RBBR	RB4	AR1
4,5	632,22 a	40,14 a	39,26 a	8,61 a
5,0	440,92 a	33,69 a	28,65 a	6,08 a
5,5	259,44 a	13,72 b	22,77 a	3,39 a

\* Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).



**Figura 2.** Atividade de lacase em extrato bruto de *Panus lecomtei* em três níveis de pH.

\* Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Todos os corantes utilizados nesta investigação foram descoloridos pelo extrato enzimático bruto de *P. lecomtei* (Figuras 3, 4 e 5), mas somente na



descoloração de RBBR houve diferença estatisticamente significativa (Tabela 2). O RBBR foi o corante que sofreu a maior descoloração, atingindo 40,1% com o extrato de 20 dias (Figura 1), seguido pelo RB4 (39,2% aos 20 dias) e pelo AR1 (12,1% aos 15 dias). Diferentes corantes não são descoloridos com a mesma eficiência pelas enzimas ligninolíticas, pois esse processo é influenciado por características dos corantes e seus grupos cromóforos, como distribuição de elétrons, densidade de carga, fatores estéricos e substituintes do corante (Liu et al., 2004). Em todos os casos observados no presente trabalho as maiores descolorações tenderam a ocorrer em níveis de pH mais baixos. Zeng et al. (2011) observaram descoloração dos mesmo compostos utilizados neste trabalho (e também outros dois: Acid Blue 129 e Reactive Black 5 por lacase de *T. trogii* cultivado em meio sólido. As maiores descolorações foram observadas em pH 4,0 – 5,0, o que coincide com os resultados deste experimento. Segundo Mechichi et al. (2006) isso ocorre porque as lacases apresentam maior atividade em pH mais baixos, entre 4,0 e 5,0.

Mais de uma enzima do complexo ligninolítico de um fungo de podridão branca podem estar envolvidas na descoloração de um composto específico (Wesenberg et al., 2003), dessa forma não há como afirmar que a descoloração dos compostos utilizados neste trabalho seja resultado da ação isolada de lacases. No entanto, é farta a bibliografia científica que comprova a participação desta enzima na descoloração dos compostos utilizados nesta investigação (Mechichi et al., 2006; Zeng et al., 2011). Zhuo et al. (2017) utilizaram extrato bruto de *Pleurotus ostreatus* para descolorir corantes sintéticos com e sem um inibidor de lacase (*kojic acid*) e observaram uma redução na descoloração de 64,6 para 9,3% e de 89,1 para 5,1% nos corantes RB4 e RBBR, respectivamente. A descoloração residual, aquela com a utilização do inibidor, provavelmente se deve à ação de outras enzimas, mas fica patente a participação da lacase como enzima responsável pela maior

parte da descoloração alcançada pelo extrato bruto. Ademais, é sabido que *P. lecomtei* produz lacase em altas concentrações sem a necessidade de indutores (Zhang et al., 2002) enquanto que Morgenstern et al. (2008) não obtiveram sucesso na tentativa de amplificar seqüências de outras enzimas ligninolíticas (peroxidases) neste fungo. Dessa forma, pode-se afirmar que a lacase de *P. lecomtei* é responsável, ao menos em parte, pela descoloração desses compostos.

Os dois corantes que sofreram as maiores descolorações (RBBR e RB4) são da classe das antraquinonas (Tabela 1) e o que sofreu menor descoloração (AR1) é um corante azo. Os corantes azo podem ser mais resistentes à descoloração por lacases devido ao seu alto potencial redox em comparação com corantes da classe das antraquinonas (Zhang et al., 2006). As lacases geralmente têm um poder de descolorir corantes antraquinona com maior eficiência em relação a corantes de outras classes (Champagne e Ramsay, 2005).

A utilização de mediadores como o ABTS pode aumentar a taxa de descoloração de corantes azo por lacases, pois estes podem transferir elétrons entre a enzima e o corante e oxidá-lo. Zhang et al. (2006) demonstraram que em presença de ABTS a descoloração do corante azo Violeta Ácido 7 por lacase de *P. lecomtei* aumentou de 26 para 47% na metade do tempo e com menos enzima (1,7 µg/mL sem ABTS e 0,005 µg/mL com ABTS). Zeng et al. (2011) registraram que a descoloração de corantes azo por extrato bruto de *T. trogii* só foi possível quando 1mM do mediador HOBT foi adicionado à mistura de reação. Por outro lado, Legerská et al. (2018) observaram que lacase de *T. versicolor* foi capaz de descolorir dois corantes azo (Orange 2 e Acid Orange 6) sem a participação de mediadores.

No presente trabalho, mesmo sem a utilização de mediadores, o extrato bruto de *P. lecomtei* foi eficiente em degradar AR1, o que indica um grande potencial de utilização em sistemas de biorremediação. Outro fator positivo é que em muitos

fungos degradadores de madeira as lacases são enzimas induzidas (Collins e Dobson, 1997; Eggert et al. 1996), e tais indutores podem ser tóxicos, muito caros e de difícil remoção. Nesta investigação, *P. lecomtei* produziu lacase em significativas quantidades sem a necessidade de indutores, o que torna interessante do ponto de vista econômico sua utilização em aplicações industriais, ambientais e biotecnológicas.

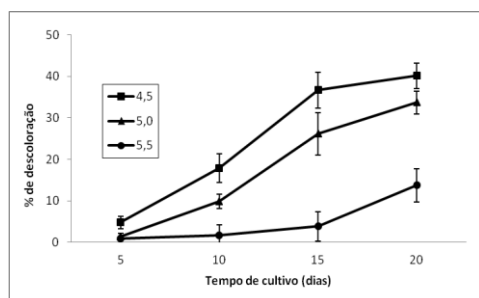


Figura 3. Descoloração de RBBR por extrato bruto de *Panus lecomtei* em três níveis de pH.

\* Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

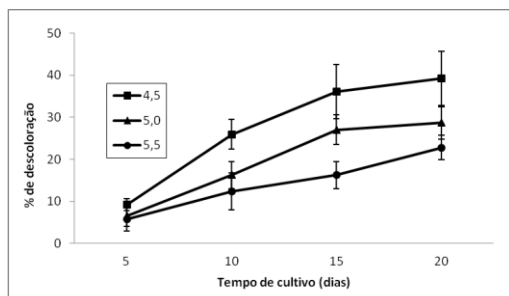


Figura 4. Descoloração de RB4 por extrato bruto de *Panus lecomtei* em três níveis de pH.

\* Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

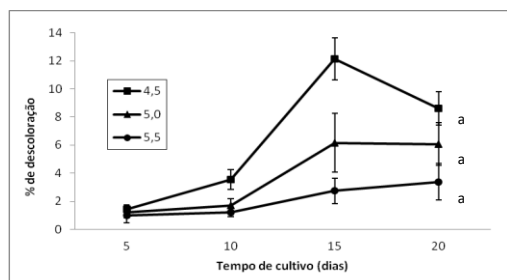


Figura 5. Descoloração de AR1 por extrato bruto de *Panus lecomtei* em três níveis de pH.

\* Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Nesta investigação foi utilizado o extrato bruto para a descoloração dos compostos, em contraposição à utilização da enzima purificada. Dentre as vantagens de utilização do extrato bruto, destacam-se o custo, que é menor, visto não ser necessária a purificação (Zhuo et al., 2017). Além disso, o extrato pode conter mediadores da enzima naturalmente secretados pelo fungo (Johannes e Majcherczyk, 2000), o que aumentaria seu poder de descoloração.

#### 4. Conclusões

Neste estudo foi investigada a capacidade de *P. lecomtei* em produzir lacase em meio de cultura líquido e a atividade desta enzima em três níveis de pH, bem como a capacidade do extrato bruto em descolorir três corantes industriais. O isolado demonstrou ser um eficiente produtor de lacase, atingido um pico de 632,2UI/L em pH 4,5. Provavelmente o pico máximo de produção de lacase não foi atingido e seja ainda maior, pois aos 20 dias de cultivo a curva de produção desta enzima ainda era ascendente. O extrato bruto do isolado foi capaz de descolorir todos os corantes utilizados neste trabalho, especialmente os corantes da classe das antraquinonas, mas também o corante azo sem a adição de mediadores na mistura de reação. Dessa forma, o isolado de *P. lecomtei* demonstrou potencial para utilização em processos de biotecnologia ambiental, especialmente biorremediação.

#### Agradecimentos

Os autores agradam à UFAM e EMBRAPA. R. Vargas-Isla agradece a bolsa de estudos da “Ação Orçamentária – MCTIC/PT 19.571.2021 – VD.0001 (C, T & I para Pesquisa, Desenvolvimento, Conservação, Valoração e Sustentabilidade dos Recursos Naturais Brasileiros). Os autores também agradem o suporte financeiro e logístico da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, do Centro de Estudos Integrados da Biodiversidade Amazônica



(INCT-CENBAM), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), do Programa de Pesquisas Biológicas (PPBio).

### Divulgação

Este artigo é inédito. Os autores e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

### Referências

- AI, M. Q., WANG, F. F., HUANG, F. Purification and characterization of a thermostable laccase from *Trametes troglia* and its ability in modification of kraft lignin. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 1361-1370, 2015.
- BIBI, I., BHATTI, H.N., ASGHER, M. Comparative study of natural and synthetic phenolic compounds as efficient laccase mediators for the transformation of cationic dye. **Biochemical Engineering Journal**, v. 56, p. 225-231, 2011.
- BUSWELL, J. A., CAI, Y. J., CHANG, S. T. Effect of nutrient and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Lentinula (Lentinus) edodes*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 128, p. 81-88, 1995.
- CANAS, A. I., CAMARERO, S. Laccases and their natural mediators: biotechnological tools for sustainable eco-friendly processes. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 694-705, 2010.
- CHAMPAGNE, P. P., RAMSAY, J. A., Contribution of manganese peroxidase and laccase to dye decoloration by *Trametes versicolor*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 69, p. 276-285, 2005.
- CHANG, Y. T., LEE, J. F., LIU, K. H., LIAO, Y. F., YANG, V. Immobilization of fungal laccase onto a non-ionic surfactant-modified clay material: application to PAH degradation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 4024-4035, 2016.
- COLLINS, P., DOBSON, A. Regulation of laccase gene transcription in *Trametes versicolor*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, p. 3444-3450, 1997.
- COUTO, S. R.; HERRERA, J. L. T. Industrial and biotechnological applications of laccases: a review. **Biotechnology Advances**, v. 24, p. 500-513, 2006.
- DWIVEDI, U. N., SINGH, P., PANDEY, V. P., KUMAR, A. Structure-function relationship among bacterial, fungal and plant laccases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 68, p. 117-128, 2011.
- EGGERT, C., TEMP, U., ERIKSSON, K. E. Laccase is essential for lignin degradation by the white-rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*. **FEBS Letters**, v. 407, p. 89-92, 1997.
- EGGERT, C., TEMP, U., ERIKSSON, K. E. The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: purification and characterization of the laccase. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, p. 1151-1158, 1996.
- FERREIRA, E. B., CAVALCANTI, P. P., NOGUEIRA, D. A. ExpDes: An R Package for ANOVA and Experimental Designs. **Applied Mathematics**, v. 5, p. 2952-2958, 2014.
- FISHER, R. A. **Statistical Methods for Research Workers**. Edimburgo: Oliver & Boyd, 1925.
- ISHIKAWA, N. K., VARGAS-ISLA, R., CHAVES, R. S., CABRAL, T. S. Macrofungos da Amazônia: importância e potencialidades. **Ciência & Ambiente**, v. 44, p. 129-139, 2012.
- JOHANNES, C., MAJCHERCZYK, A. Laccase Activity Tests and Laccase Inhibitors. **Journal of Biotechnology**, v. 78, p. 193-199, 2000.
- JURADO, M., PRIETO, A., MARTÍNEZ-ALCALÁ, Á., MARTÍNEZ, Á. T., MARTÍNEZ, M. J., Laccase detoxification of steam-exploded wheat straw for second generation bioethanol. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 6378-6384, 2009.





- JUSTINO, C., MARQUES, A. G., DUARTE, K. R., COSTA DUARTE, A., PEREIRA, R., ROCHA-SANTOS, T., FREITAS, A. C. Degradation of phenols in olive oil mill wastewater by biological, enzymatic, and photo-Fenton oxidation. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, p. 650–656, 2010.
- LEGRSKÁ, B., CHMELOVÁ, D., ONDREJOVIČ, M. Decolourization and detoxification of monoazo dyes by laccase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 84–90, 2018.
- LING, Z. R., WANG, S. S., ZHU, M. J., NING, Y. J., WANG, S. N., LI, B., YANG A. Z., ZHANG, G. Q., ZHAO, X. M. An extracellular laccase with potent dye decolorizing ability from white rot fungus *Trametes* sp. LAC-01. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 785–793, 2015.
- LIU, W., CHAO, Y., YANG, X., BAO, H., QIAN, S. Biodecolorization of azo, anthraquinonic and triphenylmethane dyes by white-rot fungi and a laccase-secreting engineered strain. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 31, p. 127–132, 2004.
- MAYER, A. M., STAPLES, R. C. Laccase: new functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, v. 60, p. 551–565, 2002.
- MCMULLAN, G., MEEHAN, C., CONNEELY, A., KIRBY, N., ROBINSON, T., NIGAM, P., BANAT, I., MARCHANT, R., SMYTH, W. Microbial decolourisation and degradation of textile dyes, **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, p. 81–87, 2001.
- MECHICHI, T., MHIRI, N., SAYADI, S. Remazol Brilliant Blue R decolourization by the laccase from *Trametes troglia*. **Chemosphere**, v. 64, p. 998–1005, 2006.
- MORGENSTERN, I., KLOPMAN, S., HIBBETT, D. S. Molecular evolution and diversity of lignin degrading hem peroxidases in the Agaricomycetes. **Journal of Molecular Evolution**, v. 66, p. 243–257, 2008.
- OTTONI, C. A., SANTOS, C., KOZAKIEWICZ, Z., LIMA, N. White-rot fungi capable of decolourising textile dyes under alkaline conditions. **Folia Microbiologica (Praha)**, v. 58, 187–193, 2013.
- PEGLER, D. N. The genus *Lentinus*: a world monograph. **Kew Bulletin Additional Series**, v. 10, p. 1–273, 1983.
- PRANCE, G. T., 1984. The use of edible fungi by Amazonian Indians. **Advances in Economic Botany**, v. 1, p. 127–139, 1984.
- RIVERA-HOYOS, C. M., MORALES-ALVAREZ, E. D., POUTOU-PINALES, R. A., PEDROZA-RODRIGUEZ, A. M., RODRIGUEZ-VAZQUEZ, R., DELGADO-BOADA, J. M. Fungal laccases. **Fungal Biology Reviews**, v. 27, p. 67–82, 2013.
- ROBINSON, T., MCMULLAN, G., MARCHANT R., NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technology**, v. 77, p. 247–255, 2001.
- SANCHEZ, C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 185–194, 2009.
- SANUMA, O.I., TOKIMOTO, K., SANUMA, C., AUTUORI, J., SANUMA, L.R., SANUMA, M., MARTINS, S.M., MENOLLI-JR. N., ISHIKAWA, N.K., APIAMÖ, R. 2016. **Ana Amopö - Enciclopédia dos Alimentos Yanomami (Sanöma): Cogumelos**. 1st ed. Instituto Socioambiental, São Paulo, 108p.
- SCOTT, A. J., KNOTT. M. A. cluster analysis method for grouping means in the analyses of variance. **Biometrics**, v. 30(3), p. 507–512, 1974.
- SENTHIVELAN, T., KANAGARAJ, J., PANDA, R. C. Recent trends in fungal laccase for various industrial applications: an eco-friendly approach-a review. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 21, p. 19–38, 2016.
- SINGH, H. **Fungal bioremediation**. New Jersey: John Willey and Son Inc, 2004. p. 420–471.
- SREBOTNIK, E., HAMMEL, K. E. Degradation of nonphenolic lignin by the laccase/1-hydroxybenzotriazole system.



**Journal of Biotechnology**, v. 81, p. 179-188, 2000.

SUMANDONO, T., SARAGIH, H., WATANABE, T., AMIRT, R. Decolorization of Remazol Brilliant Blue R by new isolated white rot fungus collected from tropical rain forest in East Kalimantan and its ligninolytic enzymes activity. **Procedia Environmental Sciences**, v. 28, p. 45-51, 2015.

THURSTON, C. F. The structure and function of fungal laccase. **Microbiology**, v. 140, p. 19-26, 1994.

VARGAS-ISLA, R., CAPELARI, M., MENOLLI JUNIOR, N., NAGASAWA, E., TOKIMOTO, K., ISHIKAWA, N. K. Relationship between *Panus lecomtei* and *P. strigellus* inferred from their morphological, molecular and biological characteristics. **Mycoscience** (Tokyo), v. 56, p. 561-571, 2015.

VELIC, N., PAVLOVIC, H., GORENSEK, J., KEZERLE, A., MASTANJEVIC, K., VELIC, D. Screening of new fungal isolates for synthetic dye decolorization ability. **Journal of Biotechnology**, v. 47, p. 828-834, 2017.

VRANSKA, M., VOBERKOVA, S., LANGER, V., PALOVCIKOVA, D., MOULICK, A., ADAM, V., KOPEL, P. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes. **Molecules**, v. 21, p. 1553, 2016.

WESENBERG, D., KYRIAKIDES, I., AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 161-187, 2003.

YAN, J., CHEN, D., YANG, E., NIU, J., CHEN, Y., CHAGAN, I. Purification and characterization of a thermotolerant laccase

isoform in *Trametes trogii* strain and its potential in dye decolorization. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 93, p. 186-194, 2014.

ZENG, S., QIN, X., XIA, L. Degradation of the herbicide isoproturon by laccase mediator systems. **Biochemical Engineering Journal**, v. 119, p. 92-100, 2017.

ZENG, X., CAI, Y., LIAO, X., ZENG, X. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strains cultivated on solid agro-industrial residue. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, p. 517-525, 2011.

ZHANG, M., WU, F., WEI, Z., XIAO, Y., GONG, W. Characterization and decolorization ability of a laccase from *Panus rudis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 92-97, 2006.

ZHANG, M., XIAO, Y., WANG, F., ZHANG, R., LIU, L. GONG W. Production and enzyme activities of constitutive laccase from *Panus rudis*. **Journal of University of Science and Technology of China**, v. 32, p. 462-469, 2002.

ZHUO, R., MA, L., FAN, F., GONG, Y., WAN, X., JIANG, M., ZHANG, X., YANG, T. Decolorization of different dyes by a newly isolated white-rot fungi strain *Ganoderma* sp. En3 and cloning and functional analysis of its laccase gene. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, p. 855-873, 2011.

ZHUO, R., YUAN, P., YANG, Y., ZHANG, S., MA, F., ZHANG, X. Induction of laccase by metal ions and aromatic compounds in *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 and decolorization of different synthetic dyes by the extracellular laccase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 117, p. 62-72, 2017.