

## Revue bibliographique sur les aspects pratiques de la valorisation des résidus lignocellulosiques par la digestion fongique.

Bangala D.B.M.<sup>1\*</sup>, Masimango N.T.<sup>1</sup>

### Abstract

Published online:  
27 July, 2014

### Bibliographical review of practical aspects of the lignocellulosic residues valorization by fungal digestion

**Keywords:**  
*management, lignocellulosic residues, fungi, SSF, lignolytic enzymes, wrf*

The lignocellulosic residues are generated in great quantities from plant biomass. Their bad management is an important source of environmental pollution. However, since they are made of cellulose, hemicelluloses and lignin, they may be valorized as green manure, fodder, source of energy and potential source of other useful product for man. The lignocellulose can be valorized by physical, chemical and biological methods. The biological treatment of lignocelluloses may be got from many organisms but, apart from using them as fodder, the most important modification of lignin is got by the action of extracellular oxidative enzymes produced by white rot fungi. A good transformation of these residues requires some experimental conditions favorable to the development and the activity of those organisms. The knowledge of the lignocellulosic structure, the taxonomic position of lignolytic fungi, mechanism of action of their enzymes and the fundamental cultural aspects of their growth is necessary for an efficient biological treatment on lignocellulosic residues. All these elements are treated in this article of the present study.

<sup>1</sup>Département de Chimie et Industries Agricoles, Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université de Kinshasa BP 117 Kin XI

\* To whom correspondence should be address. E-mail address: [daniel\\_bangala@yahoo.com](mailto:daniel_bangala@yahoo.com)

### INTRODUCTION

Les résidus lignocellulosiques issus de la végétation naturelle, de l'activité agricole et agro-industrielle, de l'industrie du bois et d'une partie d'ordures ménagères sont très abondants. C'est ainsi

que la lignocellulose constitue la matière organique la plus abondante sur la terre [Zadrazil & Reininger, 1989]. Le tableau I donne les valeurs mondiales de production de quelques résidus lignocellulosiques d'origine agricole.

Ces résidus sont généralement utilisés comme engrais verts, fourrages et pour la production énergétique par combustion directe. En dépit de ces usages, ils continuent à constituer une source de pollution environnementale, surtout s'ils sont mal gérés. Cependant, l'absence de valorisation de ces résidus qui sont essentiellement constitués de cellulose, hémicellulose et lignine, représente aussi une perte de matière potentiellement utilisable par l'homme. En guise d'exemple, dans les pays en voie de développement, la lignocellulose intervient pour environ 90% de la production énergétique [Demirbas & Demirbas, 2007].

Plusieurs pays développent des stratégies de valorisation des résidus agricoles et autres résidus végétaux. Koopmans et Koppejan [1997] résument les usages courants des résidus lignocellulosiques en 6F : Fuel, Fodder, Fertilizer, Fibre, Feedstock and Further uses (carburant, fourrage, engrais, fibre, nourriture et autres). Ces résidus sont directement utilisables en tant que tels ou alors ils doivent d'abord subir des prétraitements qui permettent de les dissocier en leurs principaux constituants, c'est-à-dire, en cellulose, hémicelluloses et lignine. Ces derniers sont alors valorisés séparément.

**Tableau I.** Quantité de quelques résidus lignocellulosiques produits dans le monde [Sanchez, 2009].

Résidus	Quantité (106tonne/an)
Bagasse de canne à sucre	317-380
Paille de maïs	159-191
Balle de riz	157-188
Paille de blé	154-185

Fane de soja	54-65
Paille d'orge	35-42
Fibre de coton	17-20
Paille de sorgho	15-18
Tige de banane	13-15
Tige de parasolier	4,9-5,9

Il existe des méthodes physiques, chimiques, biologiques et mixtes (une combinaison de deux ou de ces 3 méthodes) de traitement de la lignocellulose [Taherzadeh and Karimi, 2008]. Parmi ces méthodes, le traitement biologique peut être obtenu par plusieurs organismes. La cellulose peut être dégradée sans beaucoup de difficultés par les eubactéries, les fungi et les protozoaires ; de même que les hémicelluloses peuvent être transformées par les bactéries et les fungi. La dégradation biologique de la lignine, à cause des types de liaisons de ses constituants, n'est faisable qu'en présence de certaines enzymes oxydatives trouvées chez les bactéries appelées actinomycètes, notamment au cours du compostage, et surtout chez les champignons appelés white-rot fungi (wrf) ou champignons de pourriture blanche [Waldner, 1987 ; Tuomela et al., 2000 ; Agrios, 2005, Potumardi et al., 2013].

Les wrf secrètent des enzymes oxydatives extracellulaires, des peroxydases et des oxydases. Ces dernières hydrolysent la lignocellulose et les champignons absorbent les produits issus de l'action enzymatique [Sanchez, 2009].

L'attaque est d'abord naturelle mais lente. En conditions contrôlées, une bonne transformation de ces résidus requiert la mise en place des conditions expérimentales favorables au développement et à l'activité de ces organismes [Pandey, 2003].

Une discussion sur les principaux paramètres nécessaires à la réussite de leur culture sur substrat solide (solid state fermentation) en conditions contrôlées, en vue d'obtenir une opération réussie, est donnée dans cet article.

## STRUCTURE DE LA LIGNOCELLULOSE

La lignocellulose est un constituant de la paroi cellulaire des végétaux. Elle se compose de trois types de polymères : la cellulose, l'hémicellulose, et la lignine.

La cellulose est un polymère linéaire constitué des sous unités de molécules de cellobioses, c'est-à-dire par des D-glucose liés entre eux par des liaisons osidiques  $\beta$ -1,4. Le nombre de sous-unités de cellobiose constituant la cellulose varie de 4000 à 5000 en moyenne. La molécule de cellulose est linéaire [Perez et al., 2002].

L'hémicellulose est un polymère complexe d'hydrates de carbone. Polysaccharide avec un poids moléculaire plus bas que celui de la cellulose, il est constitué de D-Xylose, D-mannose, D-alactose, D-glucose, L-arabinose, des acides 4-O-méthyl-glucuroniques, D-galacturoniques et D-glucuroniques. Les oses sont liés entre eux par des liaisons osidiques  $\beta$ -1,4 et occasionnellement  $\beta$ -1,3 [Perez et al., 2002].

La principale différence avec la cellulose est que les hémicelluloses comportent des ramifications avec de courtes chaînes latérales constituées de différents oses. Contrairement à la cellulose, ces polymères sont facilement hydrolysables. Ils ne forment pas d'agrégats, même cocrystallisés avec des chaînes de cellulose.

La lignine est présente dans les parois cellulaires des plantes. Elle en constitue le support structural, confère l'imperméabilité, la résistance contre les attaques microbiennes

et le stress oxydatif. Du point de vue structural, la lignine est un hétéropolymère amorphe, insoluble dans l'eau et sans activité optique. Elle est constituée par des unités de phenylpropane jointes entre elles par différents types de liens aussi bien par des liaisons éther (C-O) que carbone-carbone. Elle comprend trois principaux constituants de base : l'alcool p-coumarique (p-hydroxyphenyl propanol), l'alcool coniferylique (guaiacyl propanol), et l'alcool synapylique (syringyl propanol) [Jeffries, 1994].

Dans les bois tendres, l'alcool coniferylique est le principal constituant ; la lignine des bois durs est constituée des unités d'alcools guaiacyl et syringyl tandis que la lignine des herbes est plutôt constituée des unités de guaiacyl, de syringyl et de p-hydroxyphenyl.

Les espèces de plantes boisées sont caractérisées par une croissance lente avec comme conséquence une fermeté dans l'agencement des polymères constitutifs de leur fibres (cellulose, hémicellulose et lignine) donnant une surface externe dure. Tandis que les plantes herbacées sont à croissance plus rapide avec des liens moins forts entre les fibres constituant leur paroi secondaire, cela implique aussi qu'elles ont une proportion plus faible en lignine que dans les cas des essences boisées.

Les proportions relatives de cellulose et de lignine sont des facteurs majeurs déterminant les types de traitement et de valorisation requis pour un type donné de résidus végétaux [McKendry, 2002].

## GENERALITES SUR LES WHITE ROT FUNGI

En parlant des white-rot fungi, il s'agit beaucoup plus d'un groupe physiologique que taxonomique. Ce groupe comprend les fungi ou mycètes qui sont capables de

dégrader intensivement la lignine d'un substrat lignocellulosique. Le nom de white-rot fungi (wrf) provient de l'aspect que le bois acquiert lorsqu'il est attaqué par ces champignons. L'élimination de la lignine donne une apparence blanchie à ces bois [Blanchette et al., 1988 ; Pointing, 2001].

Les mycètes sont capables de digérer leur nourriture à l'extérieur de leur corps en l'hydrolysant au moyen des puissants enzymes. Ces enzymes décomposent les molécules complexes en composés simples que les mycètes peuvent alors absorber et utiliser. Ils sont soit saprophytes, soit parasites des végétaux ou d'animaux. Un très grand nombre d'espèces réalisent en outre des symbioses avec des végétaux, des protistes ou des procaryotes [Arms and Camps, 1989].

#### Classification des wrf

Dans la classification phylogénétique, le règne des fungi est subdivisé en 5 phyla ou embranchements. Il s'agit de : Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota et Zygomycota [Lutzoni et al., 2004]. Les wrf se retrouvent particulièrement aux embranchements des Ascomycota et des Basidiomycota.

La méthode de classification phylogénétique est un système de classification des êtres vivants basé sur des concordances généalogiques entre un certain nombre de gènes. Son objectif est de rendre compte des degrés de parenté entre les espèces. En plus de l'analyse discriminante des espèces, cette méthode indique si les populations fongiques effectuent des échanges des gènes dans la nature et, partant de cela, elle permet de comprendre leur histoire évolutive ou phylogénie [Blackwell, 2011].

L'embranchement des Ascomycota est divisé en trois sous-embranchements

monophylétiques : Taphrinomycotina, Saccharomycotina et Pezizomycotina.

Pezizomycotina est le plus grand sous-embranchement des Ascomycètes et comprend la grande majorité des champignons filamenteux parmi lesquels on trouve des wrf tels que *Xilaria hypoxylon* et *Daldinia concentrica*.

L'embranchement des Basidiomycota est subdivisé en trois sous-embranchements : les Pucciniomycotina, les Ustilaginomycotina et les Agaricomycotina autrefois appelés les Basidiomycètes. Les Pucciniomycotina comprennent principalement des champignons responsables de la rouille (environ 7000 espèces) qui sont essentiellement des agents pathogènes des plantes terrestres.

Les Agaricomycotina comprennent près de deux tiers des basidiomycètes connus, y compris la grande majorité des champignons formant des fructifications ; c'est parmi ceux-ci qu'on retrouve les wrf appartenant aux Basidiomycotina [James et al., 2006].

#### Importance et rôle des wrf

Les wrf ont plusieurs rôles connus. Le principal et le plus important est la décomposition de la matière organique d'origine végétale morte, c'est-à-dire, les parties des plantes mortes. C'est dans l'objectif d'en faciliter la désagrégation et d'en rendre possible l'utilisation par eux-mêmes et par d'autres organismes vivants.

Les contraintes de la périodicité des wrf, de la disparition de certaines espèces, suite à leur mauvaise exploitation, à la destruction des écosystèmes forestiers par la pression démographique, a conduit au développement, dans le monde entier, de l'activité de culture des espèces de ces champignons qui sont comestibles [Chang, 2003 ; Mshigeni, 2003 ; Boa, 2006 ; Dibaluka, 2010].

Les espèces ayant un bon rendement sont cultivées sur une variété de substrats organiques ; les technologies sont bien établies et des industries de champignon à succès ont été établies dans beaucoup de pays. Il y a eu une énorme augmentation de la production ces dernières années, surtout suite à une capacité accrue en Chine [Chang, 2003].

Les wrf comportent, en plus de ceux qui sont comestibles, d'autres qui produisent des métabolites importants en agro-industrie ou en thérapie. Pour certaines espèces de ces champignons, l'appartenance à un groupe d'utilité est nette tandis que pour d'autres, la distinction entre les différentes catégories n'est pas toujours évidente [Chang, 2003] : Le *Pycnoporus cinnabarinus*, non comestible produit des arômes de grande valeur en agro-industries et en industries cosmétiques [Gross et al., 1990], le *Coriolus versicolor*, non comestible est un champignon dont l'importance médicale est croissante [Wasser and Weis, 1999 ; Lau et al., 2004 ; Donatini1, 2010 ; Danatini2, 2010]. Plusieurs des espèces communes comestibles ont des propriétés thérapeutiques et plusieurs champignons médicinaux sont aussi consommés : certaines espèces de *Ganoderma* sont des champignons médicinaux ayant une grande valeur thérapeutique [Boa, 2006 ; Danatini2, 2010], *Lentinula edodes*, *Volvariella volvacea*, *Auricularia auricula* sont des champignons comestibles, avec des propriétés médicinales ; ils sont largement cultivés [Boa, 2006 ; Qin, 2010].

En République Démocratique du Congo (RDC), les espèces les plus cultivées sont comestibles [Dibaluka et al., 1999 ; Dibaluka et al., 2009 ; Dibaluka et al., 2010]. Cela revêt beaucoup d'intérêt dans la mesure où cette opération permet de résorber les résidus lignocellulosiques produits en grande quantité

mais aussi de lutter contre l'insécurité alimentaire et la malnutrition par la fourniture à la population d'une alimentation de bonne qualité (les champignons comestibles). Malheureusement, la quantité des champignons ainsi produits est encore insuffisante pour avoir un impact significatif sur l'ensemble de la population et le coût de production est relativement élevé ; ce qui a un impact sur le prix de vente de cette denrée alimentaire.

### MODE D'ACTION DES ENZYMES LIGNOLYTIQUES

Dans la nature, la dégradation de la lignine est généralement effectuée par les wrf ; ce sont des Basidiomycètes et plus rarement des Ascomycètes. Ces wrf sont capables de dégrader la cellulose, les hémicellulose et la lignine. Il existe deux types de wrf, les wrf à action « simultanée » et les wrf à action « séquentielle ». Les wrf « simultanés » dégradent les hydrates de carbone et la lignine quasiment à la même vitesse. Les wrf « séquentiels » dégradent d'abord la lignine et les hémicelluloses ; ce qui laisse un substrat enrichi en cellulose [Smith, 1988].

Les modifications provoquées au cours de la désagrégation de la lignocellulose par les wrf dépendent de l'espèce ou de la catégorie du wrf, des types de substrat ou matière végétale en dégradation et des conditions environnementales [Martinez et al., 2005].

La capacité de cataboliser la cellulose et les hémicelluloses fait partie du métabolisme primaire des fungi et se déroule sous une variété de conditions environnementales. Comme conséquence, ce catabolisme n'est pas considéré comme un facteur limitant dans le cycle du carbone. La lignine, cependant, est extrêmement récalcitrante, résistante à la dégradation. Elle

est minéralisée par les wrf dans un processus oxydatif aérobie strict [Pointing, 2001].

Les wrf sécrètent différemment un ou plusieurs d'enzymes extracellulaires qui sont essentielles pour la dégradation de la lignine, et qui se combinent avec d'autres mécanismes pour déminéraliser la lignine. Ils sont souvent appelés Enzymes Modifiant la Lignine ou LME (Lignin Modifying Enzymes). Les principaux LME sont :

Les laccases (Lac, benzène diol oxygen oxidoreductase : EC 1.10.3.2) : les Lac sont des phénoloxidasés dont le site actif contient quatre atomes de cuivre. Ils catalysent l'oxydation directe des composés phénoliques par enlèvement d'un électron, création d'un groupe phénoxy générateur des radicaux libres. L'oxydation des parties non phénoliques de la lignine exige la présence d'un médiateur tel que le ABTS (2,2'-azinobis-3-éthylthiazoline-6-sulfonate) [Jeffries, 1994 ; Wong, 2009].

Peroxydases de la lignine (LiP, diarylpropane peroxydases, EC 1.11.1.14) : Les LiP sont des glycoprotéines à hème. Ils jouent un rôle crucial dans la biodégradation de la lignine. Les peroxydases de lignine catalysent, à partir du peroxyde d'hydrogène, la dépolymérisation oxydative des composés non phénoliques (diarylpropane), et de nombreux composés phénoliques de la lignine [Blackwell, 2011].

Manganèses peroxydases (MnP, E.C. 1.11.1.13) : Ce sont des glycoprotéines extracellulaires ; ils sont sécrétés en de multiples isoformes qui contiennent une molécule d'hème sous forme de protoporphyrine IX de fer [Wong, 2009 ; Blackwell, 2011]. Les manganèses peroxydases utilisent le Mn(II) comme substrat réducteur. Ces enzymes oxydent la Mn(II) en Mn(III), qui est ensuite libérée de

l'enzyme en complexe avec l'oxalate ou avec d'autres agents de chélation. Le complexe de Mn(III) chélaté agit comme un médiateur redox réactif dans l'oxydation de substrats phénoliques tels que les simples phénols, les amines, les colorants, les sous structures phénoliques de lignine et les dimères. Le potentiel d'oxydation du complexe Mn(III) est seulement limité aux structures phénoliques de lignine. Pour l'oxydation des substrats non phénoliques par Mn(III), des radicaux réactifs doivent être formés en présence d'un second médiateur. Des acides organiques, tels que malonate et oxalate, sont les composés primaires qui agissent comme médiateurs secondaires dans la production de radicaux réactifs.

Peroxydases versatiles (VP, EC 1.11.1.16) : les VP constituent une catégorie des manganèses peroxydases montrant des activités sur les substrats aromatiques similaires aux peroxydases de lignine. Ce groupe d'enzymes est non seulement capable d'oxyder Mn(II) en Mn(III) comme avec les manganèses peroxydases, mais aussi des substrats phénoliques et non phénoliques qui sont typiques des peroxydases de lignine. La caractérisation moléculaire des peroxydases versatiles révèle des structures qui sont plus proches des peroxydases de lignine que des isozymes de manganèse peroxydases.

Enzymes accessoires : Outre les ligninases, d'autres enzymes extracellulaires fongiques, qui agissent comme enzymes accessoires, sont impliquées dans la dégradation de la lignine [Blackwell, 2011]. Ces enzymes incluent des oxydases générant du peroxyde d'hydrogène, nécessaire aux peroxydases, et des déshydrogénases qui réduisent les composés dérivés de la lignine. Les oxydases générant du peroxyde d'hydrogène comprennent l'aryl

alcool oxydase et la glyoxal oxydase. De plus, des aryl alcool déshydrogénases et des quinones réductases sont aussi impliqués dans la dégradation de la lignine. Enfin, la cellulose déshydrogénase est aussi impliquée dans la dégradation de la lignine en présence de peroxyde d'hydrogène et d'ions de fer chélatés.

Les principales réactions catalysées par les enzymes lignolytiques peuvent être résumées en termes de dépolymérisation, démethoxylation, décarboxylation, hydroxylation et ouverture des cycles aromatiques.

Chaque groupe de wrf produit l'un ou l'autre type d'enzymes lignolytiques citées plus haut. Le groupe produisant la LiP et le MnP ainsi que le groupe de MnP et de Lac semblent plus grands dégradeurs que les groupe produisant la LiP et le Lac ; sans doute à cause du rôle de la MnP dans la délignification [Hatakka, 1994 ; Tuomela et al., 2000].

La synthèse par les wrf des enzymes lignolytiques, le mécanisme d'action extracellulaire et non spécifique de ces enzyme permet à ces organismes de s'attaquer à la lignine, vue sa taille et sa nature [Hatakka, 1994 ; Hamman, 2005], mais aussi de dégrader les polluant organiques dont la structure est voisine à celle de la lignine [Patel et al., 2013, Nguyen et al., 2013, Gros et al., 2014].

Au niveau de la RDC, il y a une pollution environnementale due à l'usage abusif et non contrôlé des pesticides et des colorants textiles (azoïques, etc.), à la mauvaise gestion des résidus agricoles, des déchets miniers et à la présence des résidus d'explosifs provenant de la répétition des guerres civiles dans le pays. C'est ainsi que, parallèlement aux travaux de biodégradation de la lignocellulose dans le

but de la production des champignons comestibles, le développement et la promotion de la recherche sur la production énergétique (biogaz et bioéthanol) ainsi que sur la bioremediation partant des résidus lignocellulosiques et des wrf, ont besoin d'être initiés et soutenus.

### ASPECTS CULTURAUX DES WRF SUR LA LIGNOCELLULOSE

Quels que soient le type et l'origine des résidus lignocellulosiques, le préalable à leur colonisation mycélienne est que l'organisme cultivé y trouve un minimum de conditions physico-chimiques et nutritives appropriées à son développement.

La dégradation naturelle est lente, mais cela peut être accéléré en culture contrôlée. Il importe pour cela qu'un certain nombre des paramètres expérimentaux soit pris en compte. Ces facteurs comprennent la température, le pH, l'aération, l'humidité, l'activité de l'eau, les propriétés du bioréacteur, la nature du substrat solide utilisé [Singhaniala et al., 2009, Khuong et al., 2014].

L'utilisation des résidus lignocellulosiques comme substrats dans le processus de fermentation à l'état solide peut constituer une valorisation efficace pour ces sous-produits [Singhaniala et al., 2009, Khuong et al., 2014]. Parfois, il est nécessaire de faire subir un prétraitement au substrat, avant la culture fongique, pour en faciliter la colonisation mycélienne [Oei, 2005 ; Taherzadeh & Karimi, 2008, Khuong et al., 2014].

La fermentation à l'état solide ou SSF (Solid State Fermentation) est définie comme étant la fermentation obtenue à partir du développement des microorganismes sur la matière solide en absence de l'eau libre. Le substrat devant contenir suffisamment d'humidité pour ne pas entraver le développement de l'organisme qui favorise la fermentation [Pandey, 2003].

Elle s'oppose à la fermentation à l'état immergé ou SmF (Submerged Fermentation).

Oei [2005] donne des informations importantes sur la procédure de mise en culture des champignons à partir d'une fructification fraîche récoltée sur terrain ou alors sur l'acquisition des mycéliums à partir d'un producteur expérimenté. Cette littérature s'applique aux champignons comestibles mais peut aussi servir à d'autres types des macromycètes.

A cause de son imperméabilité, les diastases de la plupart des micro-organismes ne parviennent pas à hydrolyser la lignine tandis que les Basidiomycètes, grâce aux enzymes lignolytiques qu'ils produisent (détaillées au point 4), en sont les dégradeurs les plus efficaces. Ils sont ainsi désignés par le terme white-rot fungi à cause de l'aspect blanchâtre qu'acquière les substrats lignocellulosiques après leur biodégradation par ces organismes [Blanchette et al., 1988 ; Pointing, 2001].

Dans la dégradation des résidus lignocellulosiques par des wrf, la SSF permet une simulation des conditions naturelles de croissance de fungi mis en culture. Elle facilite la croissance de ces organismes sur des résidus lignocellulosiques et permet d'atteindre un certain nombre des finalités : le blanchiment et la réduction en pâtes des résidus lignocellulosiques, leur enrichissement en sucre et/ou réduction de la teneur en lignine, la réduction de la pollution environnementale organique, la production des aliments pour bétail et pour hommes, des produits chimiques et pharmaceutiques. En outre, elle n'exige que peu ou pas d'apport d'eau et des sources d'énergie, ne produit pas beaucoup de résidus et est efficace pour la résorption des résidus [Pandey, 2003 ; Holker and Lenz, 2005].

D'une manière schématique, le déroulement de la SSF fait intervenir un certain nombre d'éléments à catégoriser dans ces 3 ensembles : les inputs, le process avec ses conditions opératoires et les outputs. Les caractéristiques des inputs et les conditions opératoires détermineront la nature et le rendement des outputs.

### Inputs

Les résidus agricoles provenant de la végétation naturelle (généralement graminéenne), de l'activité agricole (paille de céréales, fane d'arachide, etc.), des agro-industries (balle de riz, parche de café, coques d'arachide, etc.), de l'industrie du bois (copaux et sciure de bois) et d'une partie d'ordures ménagères ; sont généralement en grande quantité. Chaque type de résidu possède ses caractéristiques propres. C'est notamment sa teneur en cellulose, hémicelluloses, lignine et en divers portions solubles de la paroi cellulaire. Ces facteurs avec les conditions opératoires détermineront les types de fungi, le taux de dégradation, la durée de la fermentation. La croissance des fungi, par exemple, décroît en présence d'une faible teneur d'azote ou de carbone et ce n'est que dans ces conditions que s'active l'activité lignolytique qui est donc un métabolisme secondaire [Pointing, 2001].

Aux inputs peuvent s'ajouter diverses substances requises, variables selon les finalités, pour la fermentation. Cela pouvant être des alcalis, acides ou tampons imposant une valeur de pH favorable à une transformation souhaitée [Balat, 2011 ; Agbor et al., 2011], des inducteurs divers favorisant la production des enzymes lignolytiques [Blackwell, 2011, Khuong et al., 2014], des éléments nutritifs requis par les fungi pour sa bonne croissance [Smith et al., 1988, Khuong et al., 2014], d'une ou des injections des gaz

pour maintenir une ambiance gazeuse sélective vis-à-vis des organismes non désirés, etc.

La plupart des fungi préfèrent un environnement acide mais les Basidiomycètes peuvent tolérer une large gamme de pH. Ces derniers ont une croissance très limitée aux pH supérieurs à 7,5 ; les espèces du genre *Coprinus* sont les seuls Basidiomycètes préférant un substrat alcalin.

### Conditions opératoires

Dans la SSF, d'une manière générale, et dans la valorisation de la lignocellulose par les wrf en particulier, deux cas de figure peuvent se présenter [Pandey, 2003 ; Oei, 2005] :

Premièrement, un ou plusieurs types de substrat peuvent être disponibles en présence d'un certain nombre d'agents de fermentation, c'est-à-dire, les wrf. Il s'agira alors de trouver les wrf appropriés et les meilleures conditions culturales pour une valorisation efficiente. Il serait aussi important de déterminer à l'avance le type de valorisation (le produit final à obtenir).

Dans le second cas, la recherche d'un produit ou d'un résultat final spécifique peut être à la base de la SSF. Il est évident que dans ce cas, il faudra déterminer les substrats, les fungi et les conditions opératoires adéquates.

La principale difficulté qui se pose avec la SSF est la maîtrise de l'opération pouvant conduire à une reproductibilité des résultats et à l'établissement d'une standardisation. Le processus de SSF est très susceptible et fort dépendant des conditions de température, d'humidité, de la concentration de divers éléments du substrat, des stress divers sur l'agent biologique. Ces éléments peuvent fluctuer au cours de la fermentation [Holker and Lenz, 2005].

Le premier élément pratique important pour le processus de la SSF est le réacteur dans lequel la fermentation se déroulera. Un bioréacteur, appelé également fermenteur ou propagateur, est un appareil dans lequel on multiplie des micro-organismes (levures, bactéries, champignons microscopiques, algues, cellules animales et végétales) pour la production de biomasse, ou la production d'un métabolite ou encore la bioconversion d'une molécule d'intérêt.

A ce sujet, l'élément clé pour le déroulement est « le lit de la fermentation ou du substrat ». C'est la partie du bioréacteur destinée à supporter l'opération de fermentation. Celui-ci doit répondre à un certain nombre des critères :

Il doit être fabriqué avec un matériel résistant à la corrosion et au poids de la biomasse, ne pas être toxique et de prix raisonnable. Il doit faciliter la circulation d'air et de vapeur d'eau, ne pas favoriser la contamination, ni entraver le développement mycélien et enfin, ne pas entraver la récupération du produit final [Pandey, 2003 ; Holker and Lenz, 2005].

Les bioréacteurs utilisables en SSF peuvent être de forme et de dimension aussi variables que possible. Ils partent de l'échelle laboratoire (pouvant contenir quelques grammes à quelques kilogrammes) jusqu'à l'échelle industrielle (contenant plusieurs kilogrammes à plusieurs tonnes). Plusieurs types de matériaux entrent dans leur fabrication : verre pyrex, métallique, etc. [Durand, 2003].

Par rapport au mode d'alimentation : en SSF, il y a trois principaux types de bioréacteurs : les bioréacteurs de type batch une fois chargeable, les bioréacteurs en batch avec possibilité d'alimentation en cours du processus et les bioréacteurs à alimentation continue [Raghavarao et al., 2003,

Gros et al., 2014]. Les bioréacteurs à batch sont les plus utilisés avec ou sans mélange des substrats au cours de la fermentation. L'opération de mélange devant être conduite avec beaucoup d'attention parce que les cisaillements subis par le mycélium peuvent influencer sur son métabolisme et le résultat final.

Au niveau de la RDC, dans presque toute la littérature relative à la valorisation des résidus lignocellulosiques par la production des champignons comestibles, en guise des bioréacteurs, des sacs de polypropylènes pouvant contenir de 500 à 1000 g de substrat et des bocaux en verre pouvant en contenir en moyenne 300 g [Dibaluka et al., 2009; Dibaluka et al., 2010]. Ce matériel présente l'avantage d'une bonne résistance mécanique, d'être bon marché et de résister au traitement thermique de pasteurisation ou de stérilisation appliqué. Cependant, l'exploitation du process à l'échelle industrielle, dans ce pays, est encore un terrain peu exploré.

En ce qui concerne les conditions culturales, les substrats utilisés pour la culture des fungi peuvent être utilisés en condition non stérile ou au contraire, ils peuvent subir une stérilisation préalable avant d'être inoculé par ces organismes.

En culture non stérile, Smith et al. [1988] distingue trois catégories des wrf :

les wrf capables de croître sur le substrat de culture sans prétraitement préalable : la culture extensive des champignons colonisateurs du bois tels que *Lentinula edodes* (sur *Quercus* spp.), *Auricularia* spp., *Tremella edodes* et *T. fuciformis* (sur les troncs des feuillus) a été pratiquée depuis plusieurs siècles. La durée d'incubation, d'une manière générale, varie de 6 à 12 mois et la production

s'échelonne sur plusieurs années. Le prétraitement du bois n'est pas dispensable lorsque le ratio C/N est au-dessus de 100/1 et le système d'enzymatique des wrf lignolytiques colonisateurs est très efficace. Dans ce cas, le développement de la microflore naturelle concurrente est limité à cause de la carence en azote.

les wrf nécessitant un prétraitement physique ou chimique du substrat. Ce prétraitement pouvant consister en un hachage, entassement et humidification de la paille tel que fait pour la culture du *Volvariella volvacea*, un court compostage après mélange des substrats pour l'*Agaricus biosporus*, une pasteurisation de la paille entassée à 70°C ou 80°C, pendant 24h pour *Pleurotus* sp., etc.

les wrf exigeant une longue période de compostage avant de coloniser le substrat lignocellulosique. L'*Agaricus biosporus*, le *Coprinus* spp., sont des exemples des wrf qui se développent sur la matière organique ayant subi une longue et lente période de compostage.

#### Culture des wrf sur substrat stérile.

La stérilisation du substrat offre plusieurs avantages : élimination de toute compétitivité d'autres organismes, réduction du cycle de vie des fungi par fragmentation de la structure complexe du bois.

Cependant la méthode présente aussi certains inconvénients : son coût est relativement élevé et son applicabilité est très difficile pour les grandes quantités de substrat. Très souvent, elle est pratiquée pour des petites quantités de substrat ou par soucis d'obtenir une croissance rapide des fungi en culture en éliminant la compétition d'autres microorganismes.

Concernant les paramètres physico-chimiques et biologiques de la fermentation,

il y a lieu d'examiner les différents phénomènes se déroulant au cours de cette opération :

Transfert de masse. Au cours de la SSF, il se produit le transfert de masse au niveau microscopique et au niveau macroscopique [Smith et al., 1988].

Le transfert microscopique de masse est relatif à la croissance du microorganisme et dépend de la diffusion inter et intra particule des gaz ( $O_2$ ,  $CO_2$ ), des enzymes, des nutriments et des produits du métabolisme.

Le transfert macroscopique est relatif au flux massique d'air, d'eau et de tout autre produit en cours de fermentation dans et hors du bioréacteur. Ce transfert engendre des variations d'humidité, de température, de concentration des gaz ( $O_2$ ,  $CO_2$ ). Il concerne aussi les effets de cisaillement provoqués par le mélange dans le bioréacteur, comprenant les dommages au micro-organisme ou l'intégrité des particules de substrat.

Le transfert d'énergie : en général, lors de SSF, une quantité considérable de chaleur se dégage, conséquence des activités métaboliques des micro-organismes.

Au début de la fermentation, la température et la teneur en oxygène sont les mêmes en tout emplacement du lit du bioréacteur. Comme la fermentation progresse, l'oxygène diffuse et est consommé par les activités métaboliques. Il y a libération des gaz ( $CO_2$  et autres gaz issus du métabolisme des fungi) et de la chaleur. Il se produit donc une augmentation de la température et une réduction de la teneur en  $O_2$ .

La température est l'un des plus importants facteurs dont dépend la réussite de la SSF [Tuomela et al., 2000]. La majorité des fungi sont mésophiles ayant des

températures de croissance dans la gamme  $5^\circ C$  à  $37^\circ C$ , l'optimum se situant entre  $25$  et  $30^\circ C$ . Il existe aussi des wwf fungi thermophiles agissant principalement au cours du compostage, leurs températures optimum de croissance se situent entre  $40^\circ C$  et  $50^\circ C$  [Tuomela et al., 2000].

Les températures élevées affectent la germination des spores, la croissance, la formation du produit et la sporulation, tandis que les basses températures ne sont pas favorables à la croissance des micro-organismes et pour les autres réactions biochimiques. Vue la faible teneur en humidité et la mauvaise conductivité du substrat, il est difficile d'atteindre un bon transfert thermique dans SSF.

### Outputs

Les outputs sont constitués de tous les produits utiles et/ou les transformations métaboliques pour lesquels l'opération de SSF est mise en œuvre. A ceux-ci s'ajoutent les substances secondaires qui peuvent ne pas être directement désirées mais qui résultent du métabolisme de l'organisme en culture.

Les produits attendus de la SSF peuvent être aussi variés que possible. Parmi ceux-ci figurent des substrats lignocellulosiques fortement délignifiés et plus enrichis en celluloses et hémicelluloses. Ces derniers sont souvent utilisés pour la production énergétique sous forme de biogaz ou de bioéthanol [Müller and Trösch, 1986; Salvachúa et al., 2011, Pinos-Castro and Velasquez-Lozano, 2014]. Il y a aussi la production des denrées alimentaires tels que les mycéliums des champignons comestibles [Oei, 2005; Dibaluka, 2010], des agents pharmacologiques bénéfiques pour la santé telle que la lovastatine, une substance pouvant baisser la cholestérolémie, trouvée dans le mycélium de quatre espèces de champignons du

genre *Pleurotus* [Wasser and Weis, 1999], des enzymes oxydatives utilisables pour la bioremédiation des sites pollués [Rigas et al., 2009], etc.

## CONCLUSION

Les résidus lignocellulosiques sont produits en abondance ; ils sont généralement utilisés comme source de chaleur, par combustion directe, fertilisants organiques, fourrage et litière animale. Cependant, la portion non utilisée est souvent responsable de la pollution environnementale. Or, étant essentiellement constituée de cellulose, hémicellulose et lignine, cette portion constituée de lignocellulose peut être valorisée par la production de biogaz, bioéthanol, des champignons comestibles et d'autres produits utiles à l'homme.

Une utilisation efficace de la lignocellulose exige, très souvent, un ou plusieurs prétraitements. Le prétraitement biologique de la lignocellulose est efficacement effectué par les champignons de pourriture blanche ; ces derniers disposent d'un puissant équipement en enzyme oxydatif constitués des oxydases et peroxydases, extracellulaires et non spécifiques dont le spectre d'activité s'étend aussi aux structures similaires à la lignine.

La dégradation naturelle des résidus végétaux par des champignons de pourriture blanche est très lente. Cependant, elle peut se dérouler en conditions contrôlées en imitation des conditions naturelles de croissance. Le succès de l'opération est alors fonction de la connaissance et du respect des exigences culturales des champignons et des finalités attendues de l'opération de la valorisation de la lignocellulose.

En RDC, il y a une nécessité d'appui, par des capitaux publics et privés, aux producteurs locaux des champignons comestibles ; il y a aussi un besoin de la mise en place des technologies de production à grande échelle mais avec des coûts de production relativement raisonnables.

La RDC a aussi besoin d'étendre la biodégradation fongique des résidus lignocellulosiques au niveau de la production bioénergétique et d'envisager la bioremédiation à partir des wrf.

## RESUME

Les résidus lignocellulosiques sont produits en grande quantité à partir de la biomasse végétale. Lorsqu'ils sont mal gérés, ils constituent une importante source de pollution environnementale. Or, de par leur constitution, une bonne gestion de ces résidus permet de les valoriser comme engrais vert, fourrage, source d'énergie et d'en faire une source potentielle des produits utiles pour l'homme. La lignocellulose peut être valorisée par des méthodes physiques, chimiques et biologiques. Le traitement biologique de la lignocellulose peut être obtenu par plusieurs organismes mais, hormis leur usage comme fourrage, la dégradation la plus importante de la lignine est obtenue par l'action des enzymes oxydatives extracellulaires des white-rot fungi. Cependant, une bonne transformation de ces résidus requiert la mise en place des conditions expérimentales favorables au développement et à l'activité de ces organismes. La connaissance de la structure de la lignocellulose, de la position taxonomique des champignons lignolytiques, du mode d'action de leurs enzymes et des aspects culturels fondamentaux à leur croissance sont nécessaires pour un traitement biologique efficace des résidus

végétaux. Tous ces éléments sont traités dans cet article.

**Mots clés :** *gestion, résidus lignocellulosiques, fungi, SSF, enzymes lignolytiques, wrf*

## REFERENCES ET NOTES

- Agbor V.B.**, Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., Levin, D.B. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, **29** (6), Pages 675–685.
- Agrios G.N.** (2005). Plant Pathology. Elsevier Academic Press, Amsterdam, pp. 922.
- Arms K.** et Camps P.S. (1989). Biologie Tome I. de Boeck Université Editions Etudes Vivantes, Montréal (Québec) Canada. (p403-422).
- Balat M.** (2011). Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*, **52**, 858–875.
- Blackwell M.** (2011). The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American journal of botany*, **98**(3): 426–438.
- Blanchette R.A.**, Obst J.R., Hedges J.I. and Weliky, K. (1988). Resistance of hardwood vessels to degradation by White rot Basidiomycetes. *Canadian Journal of Botany*, **66** :1841-1847
- Boa E.** (2006). Produits forestiers non ligneux 17. Champignons comestibles sauvages. Vue d'ensemble sur leurs utilisations et leur importance pour les populations, <http://www.fao.org/docrep/009/y5489f/y5489f00.htm>, consulté le 30.04.2011.
- Chang S-T.** (2003). Development of the Mushroom Industry in China, with a Note on Possibilities for Africa. *Discov. innov*, **15** (3/4).
- Demirbas A.H.** and Demirbas I. (2007). Importance of rural bioenergy for developing countries. *Energy Conversion and Management*. **48** (8): 2386-2398.
- Dibaluka M.**, Muambi S., Taba K.M., Kayembe S.J., Sene M., Kumbukana B., Kibadi J. (1999). Biodégradation des rafles de maïs par la culture d'une espèce de champignon comestible, *Lentinus tigrinus* (L. ex.Fr) Fr. Med. Fac. Landbouww.Univ. Gent, 64/1.
- Dibaluka M.S.**, Lukoki L.F., De Kesel A., Degreef J. (2009). Culture de trois types de champignons sauvages indigènes comestibles de la région de Kimvula (Bas-Congo/R.D.Congo): *Auricularia cornea* (Ehrenb.: fr.) Ehrenberg Ex Endlicher, *Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller et *Pleurotus flabellatus* (Berk. & BR.) Sacc. *Rev. Cong. Sci. Nucl.* **23**(2)
- Dibaluka M.S.**, Lukoki L.F., De Kesel A., Degreef J. (2010). Essais de culture de quelques champignons lignicoles comestibles de la région de Kinshasa (R.D. Congo) sur divers substrats lignocellulosiques. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **14**(3) : 417-422.
- Donatini B.** (2010\_1). Le *Coriolus versicolor* : le plus puissant immunostimulant connu. Utilisation en cancérologie, contre les virus et pour toute stimulation immunitaire. *Phytothérapie*, **8** : 255–258.
- Donatini B.** (2010\_2). Prévention des récurrences d'herpès par l'association *Ganoderma lucidum* + *Coriolus versicolor*. *Phytothérapie*, **8** : 259–260.
- Durand A.** (2003). Bioreactor designs for solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* **13** : 113–125
- Gros, M.**, Cruz-Morato, C., Marco-Urrea, E., Longrée, P., Singer, H., Sarra, M., Hollender, J., Vicent, T., Rodriguez-Mozaz, S., Barcelo, D. (2014). Biodegradation of the x-ray contrast agent iopromide and the fluoroquinolone antibiotic ofloxacin by the white rot fungus *Trametes versicolor* in hospital wastewaters and identification of degradation products. *Water Research*, Volume 60, Pages 228-241
- Gross, B.**, Yonnet G., Picque D., Brunerie P., Corrieu G., Asther M. (1990). Production of methylanthranilate by the basidiomycete *Pycnoporus cinnabarinus* (Karst.). *Appl Microbiol Biotechnol*, **34** : 387-391.
- Hamman, S** (2004). Bioremediation capabilities of white rot fungi. BI570 – review article Spring 2004.
- Hatakka, A.** (1994). Lignin-Modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation. *FEMS Microbiology Reviews*, **13** (2-3) : 125-135.
- Holker, U.** and Lenz, J. (2005). Solid-state fermentation — are there any biotechnological advantages? *Current Opinion in Microbiology* **8** (3) : 301–306.
- James T.Y.**, Kauff F., Schoch C. L., Matheny P. B., Hofstetter V., Cox C. J., Celio G, Gueidan C. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* **443** : 818-822
- Jeffries T.W.** (1994). Biodegradation of lignin and hemicelluloses. In *Biochemistry of Microbial Degradation* (Ratledge, C.) Kluwer Academic Publishers, Netherlands, Ch. 8, 233-277)
- Karas P.A.**, Perruchon C., Exarhou K., Ehalotis C., Karpouzias D.G. (2011). Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi. *Biodegradation* **22**:215–228
- Khuong, L.D.**, Kondo, R., Leon, R.D., Anh, T.K., Meguro, S., Shimizu, K., Kamei, I. (2014). Effect of chemical factors on integrated fungal fermentation of sugarcane bagasse for ethanol production by a white-rot fungus, *Phlebia* sp.MG-60. *Bioresource Technology*, Volume 167, Pages 33-40
- Koopmans A** and Koppejan J. (1997). Agricultural and forest residues-generation, utilization and availability. In *Regional consultation on modern applications of biomass* (FAO). Kuala Lumpur, Malaysia.
- Lau C.B.S.**, Ho C.Y., Kim C.F., Leung K.N., Fung K.P., Tse T.F., Chan H.H.L., Chow M.S.S. (2004). Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. *Life Sciences*, **75**: 797–808.
- Lutzoni F.**, Kauff F., Cox C.J., Mclaughlin D., Celio G., Dentinger B., Padamsee M., Hibbett D., James T.Y., Baloch E. (2004). Assembling the fungal tree of life: Progress, Classification, and Evolution of Subcellular Traits. *American journal of botany*, **91**(10): 1446–1480.
- Martinez T. A.**, Speranza M., Ruiz-Duenas J. F., Camarero P., Guillen F., Martinez J. M., Gutierrez A., Del Rio C. J. (2005). Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *International microbiology*, **8** : 195-204.
- McKendry P.** (2002). Energy production from biomass (part 1): overview of biomass. *Bioresource Technology* **83** : 37–46
- Mshigeni K.E.** (2003). Africa's Mushrooms: A Neglected Bioresource whose Time has Come. *Discov. innov*, **15** (3/4).

- Müller H. W.** and Trösch W. (1986). Screening of white-rot fungi for biological pretreatment of wheat straw for biogas production. *Appl Microbiol Biotechnol*, **24**: 180-185
- Nguyen, L.N.**, Hai, F.I., Yang, S., Kang, J., Leusch, F.D.L., Roddick, F., Price, W.E., Nghiem, L.D. (2013). Removal of trace organic contaminants by an MBR comprising a mixed culture of bacteria and white-rot fungi. *Bioresource Technology*, Volume 148, Pages 234-241
- Oei P.**, (2005). La culture des champignons à petite échelle : pleurotes, shiitakes et auriculaires. 1ère édition. Wageningen: Fondation Agromisa, CTA.
- Pandey A.** (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, **13**: 81-84.
- Patel, V.R.**, Bhatt, N.S., BBhatt, H. (2013). Involvement of lignolytic enzymes of *Myceliophthora vellerea* HQ871747 in decolorization and complete mineralization of Reactive Blue 220. *Chemical Engineering Journal*, Volume 233, Pages 98-108
- Pérez J.**, Munoz-Dorado J., Rubia T., Martinez J. (2002). Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology*, **5** : 53-63.
- Pineros-Castro, Y.** and Velasquez-Lozano M. (2014). Biodegradation kinetics of oil palm empty fruit bunches by white rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 91, Pages 24-28
- Pointing, S. B.** (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **57**: 20-33.
- Potumarthi, R.**, Baadhe, R.R., Nayak, P., Jetty, A. (2013). Simultaneous pretreatment and saccharification of rice husk by *Phanerochete chrysosporium* for improved production of reducing sugars. *Bioresource Technology*, Volume 128, Pages 113-117
- Qin W.**, Zhiping T., Haidan L., Lei G., Sijie W., Jinwen L., Weizhi Z., Tianli Z., Jiefeng Y., Xinhua X. (2010). Chemical characterization of *Auricularia auricula* polysaccharides and its pharmacological effect on heart antioxidant enzyme activities and left ventricular function in aged mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, **46** : 284-288.
- Raghavarao K.S.M.S.**, Ranganathan T.V., Karanth N.G. (2003). Some engineering aspects of solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, **13** : 127-135.
- Rigas F.**, Papadopoulou K., Philippoussis A., Papadopoulou M., Chatzipavlidis J. (2009). Bioremediation of Lindane Contaminated Soil by *Pleurotus ostreatus* in Non Sterile Conditions Using Multilevel Factorial Design. *Water Air Soil Pollut*, **197**:121-129.
- Salvachúa D.**, Prieto A., López-Abelairas M., Lu-Chau T., Martínez Á. T., Martínez M. J. (2011). Fungal pretreatment: An alternative in second-generation ethanol from wheat straw. *Bioresource Technology* **102**: 7500-7506
- Sanchez C.** (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi *Biotechnology Advances*, **27** : 185-194.
- Singhania R.R.**, Patel A.K., Soccol C.R., Pandeya A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, **44**: 13-18.
- Smith J. F.**, Fermor T. R. and Zadrazil F. (1988). Pretreatment of lignocellulosics for edible fungi. In *Treatments of Lignocellulosics with White Rot Fungi* (Zadrazil, F., Reigner, P.). Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London, Ch.1, 3-13.
- Taherzadeh M.J.** and Karimi K. (2008). Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *Int. J. Mol. Sci.*, **9** : 1621-1651.
- Tuomela M.**, Vikman M., Hatakka A., Itavaara, M. (2000). Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*, **72** : 169-183.
- Waldner R.** (1987). Lignolytic system of white-rot fungi. Thèse de doctorat, Eidgenössischem Technischem Hochschule, Zurich, microfiche.
- Wasser S. P.** and Weis A. L. (1999). Medicinal Properties of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **1**: 47-50.
- Wasser S.P.** and Weis A.L. (1999). Medicinal Properties of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives (Review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, Vol. 1, 31-62.
- Wong W. S. D.** (2009). Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. *Applied biochemistry and biotechnology*, **157**, 174-209)
- Zadrazil F.**, Reigner P. (1988). *Treatments of Lignocellulosics with White Rot Fungi*. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London.