

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE INDUTORES NA PRODUÇÃO DE LACASES E PEROXIDASES POR *Marasmiellus palmivorus* VE111

Paula Cavion Costa, Willian D. H. Schneider, Roselei C. Fontana, Aldo J. P. Dillon, Marli Camassola

SIGLA: Pró-Amazônia

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL—LABORATÓRIO DE ENZIMAS E BIOMASSA—INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA

INTRODUÇÃO

Os fungos lignocelulolíticos secretam enzimas que atuam na desconstrução da biomassa lignocelulósica, podendo seus componentes serem convertidos em produtos de interesse biotecnológico. *Marasmiellus palmivorus*, fungo de podridão branca, é um excelente secretor de lacases. No entanto, há poucos estudos na literatura sobre o uso deste fungo na produção de enzimas ligninolíticas. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes indutores na produção de lacases e peroxidases por *Marasmiellus palmivorus* VE111.

METODOLOGIA



Marasmiellus palmivorus VE111

- 5 g/L glicose (fonte de C)
- 1,8 g/L caseína (fonte de N)
- 5% (v/v) solução de sais Mandels & Reese (1957) 20x
- 94 mL caldo de batata (200 g/L batata)
- 1 mL solução de indutor

Concentrações:

1 mmol/L, 2 mmol/L e 3 mmol/L

- Sulfato de cobre (CuSO₄)
- Sulfato de manganês (MnSO₄)
- Álcool veratrílico

- Condição controle (sem adição de indutor)

Cultivo em frascos mantidos sob agitação testando os diferentes indutores e suas concentrações

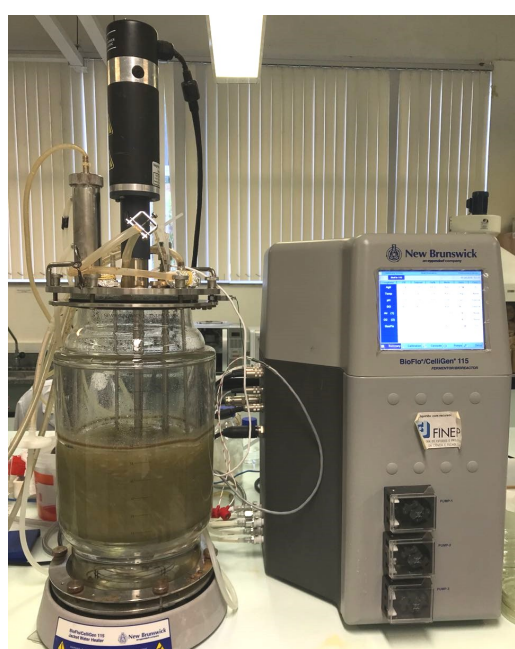


- Coletas foram realizados ao 6º e 8º dia de cultivo

Atividades enzimáticas

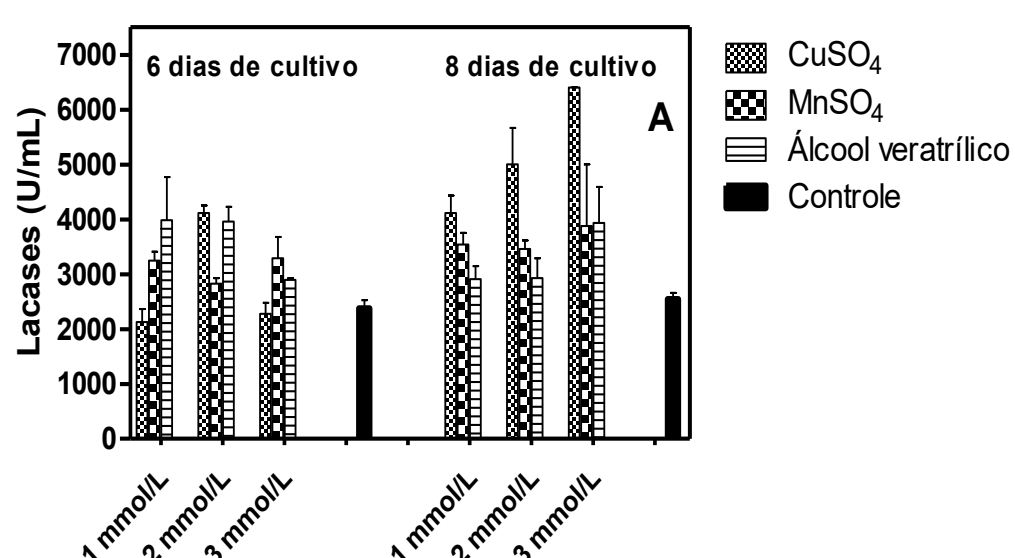
- ⇒ Lacases (Wolfenden & Wilson, 1982)
- ⇒ Peroxidases totais (Heinzkill *et al.*, 1998)
- ⇒ Manganês Peroxidases (Kuwahara *et al.*, 1984)

Cultivo em biorreator com agitação mecânica com os indutores mais promissores (New Brunswick, BioFlor®/CelliGen®115)



- Volume operacional: 5 L
- Agitação: de 100 a 800 rpm
- Temperatura: 28 °C
- pH: até 48h pH livre; 48h até 168h: pH fixo em 7,0
- Concentração de oxigênio dissolvido: 90%
- Fluxo de ar: de 0,5 a 2 vvm

RESULTADOS E DISCUSSÃO



Para lacases (Fig.1A), o uso de todos os indutores aumentou a atividade enzimática em relação ao controle, no 8º dia de cultivo. O indutor que proporcionou maiores atividades de lacases foi CuSO₄ 3 mmol/L (6404 U/mL) o que correspondente a mais do que o dobro de atividade em relação ao controle (2545 U/mL).

Figura 1. Atividades enzimáticas de Lacases (A) de *Marasmiellus palmivorus* VE111, em cultivo em frascos mantidos sob agitação, testando diferentes indutores.

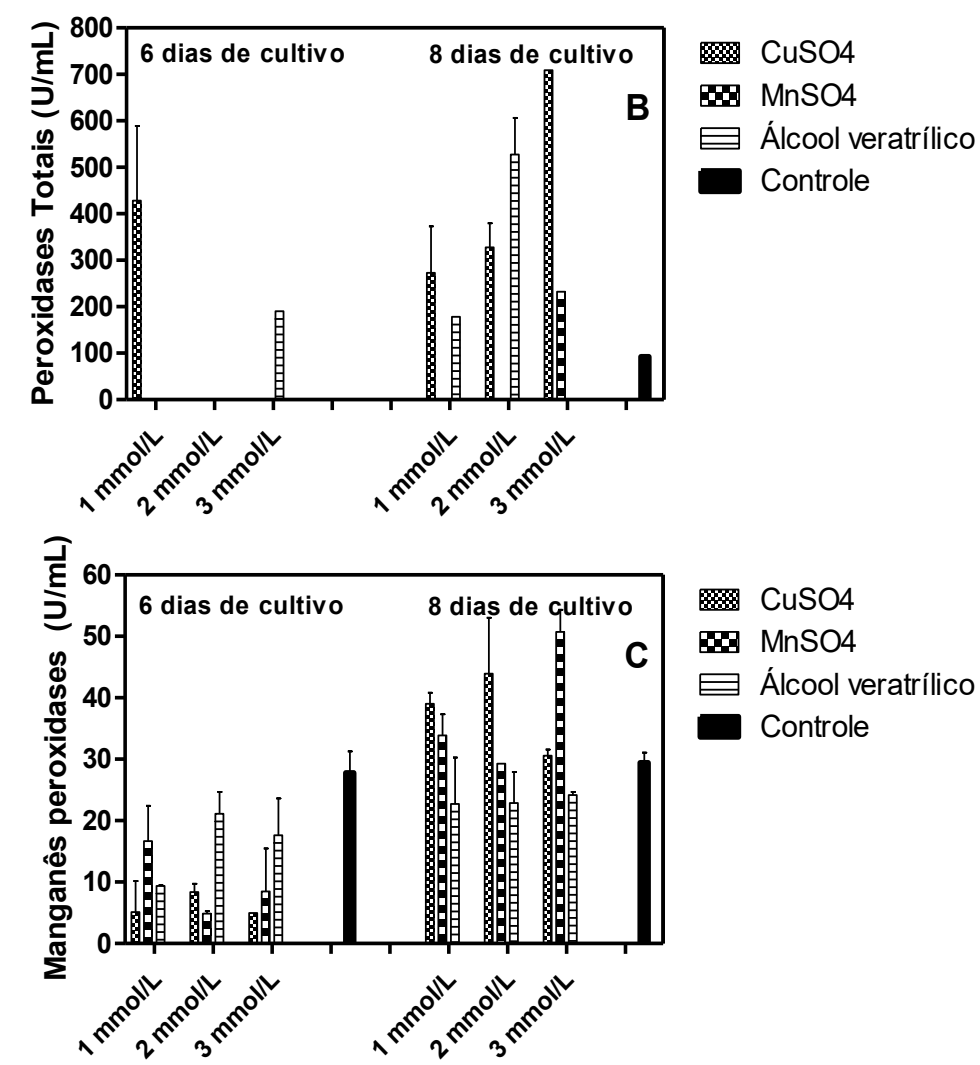


Figura 1: Atividades enzimáticas de Peroxidases Totais (B) e Manganês Peroxidases (C) de *Marasmiellus palmivorus* VE111, em cultivo em frascos mantidos sob agitação, testando diferentes indutores.

A partir dos resultados acima, resolveu-se realizar um cultivo em biorreator com agitação mecânica na presença dos indutores mais promissores (CuSO₄ e MnSO₄, ambos na concentração de 3 mmol/L). A presença dos indutores no cultivo em biorreator reproduziram os dados obtidos nos cultivos em frascos, resultando em um aumento nas atividades das enzimas de interesse. A presença dos indutores elevaram a atividade enzimática de lacases para 6588 U/mL em 112 h de cultivo, bem como de peroxidases totais, que atingiu 3533 U/mL também em 112 h de cultivo, e de manganês peroxidases que atingiu 60 U/mL em 144 h de cultivo. Todas essas atividades enzimáticas foram superiores à condição sem os indutores.

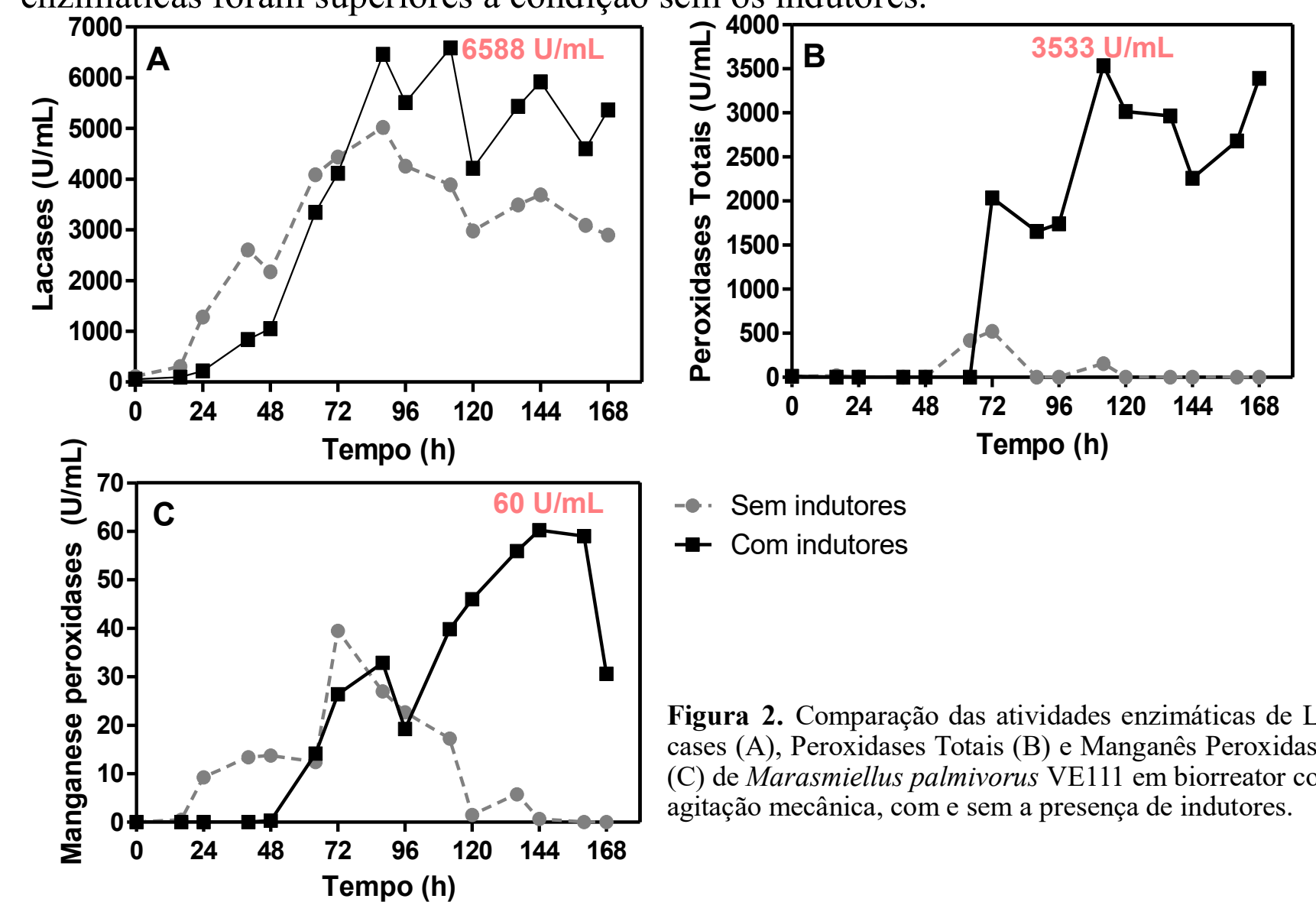


Figura 2. Comparação das atividades enzimáticas de Lacases (A), Peroxidases Totais (B) e Manganês Peroxidases (C) de *Marasmiellus palmivorus* VE111 em biorreator com agitação mecânica, com e sem a presença de indutores.

Os resultados obtidos neste trabalho foram superiores a outros trabalhos já realizados com *M. palmivorus* VE111 (Schneider *et al.*, 2018; Cantele *et al.*, 2017). Zhu *et al.* (2016), produziram 8533 U/mL de lacases com *Pleurotus ostreatus* (ACC52857), empregando 2 mmol/L de Cu⁺². Kandasamy *et al.* (2016) também elevaram as atividades enzimáticas de lacases de *Hexagonia hirta* MSF2, na presença de 2,5 xilidina 1 mmol/L e CuSO₄ 3 mmol/L, atingindo 5671 U/mL de lacases.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso dos indutores CuSO₄ e MnSO₄ na produção de lacases, peroxidases totais e manganês peroxidases mostrou-se eficiente, uma vez que elevou as atividades de todas as enzimas analisadas. Devido ao fato das lacases serem enzimas multi-cobre, a presença deste metal em CuSO₄, possivelmente proporcionou uma maior atividade desta enzima. Já o incremento na atividade de manganês peroxidases pode ser justificada pelo fato dessa enzima ser dependente de Mn⁺².

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Galhaup C, Wagner H, Hinterstoisser B, Haltrich D. (2002). *Enzyme Microb. Technol.* 30:529-536.
- Heinzkill M, Bech L, Halkier T, Schneider P, Anke T. (1998). *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 1601-1606.
- Kuwahara, M.; Glenn, J. K.; Morgan, M. A.; Gold, M. H. (1984). *FEBS Letters.* 169: 247-250.
- Laemmli, U. K. (1970). *Nature.* 227: 680-685.
- Mandels M, Reese ET. (1957). *J Bacteriol.* 73:269.
- Mazumber S, Bose S, Bandopadhyay A, Alam S, Mukherjee M. (2008). *Lett. Appl. Microbiol.* 47:355-360.
- Wolfenden RS, Wilson RL. (1982). *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 02:* 805-812.
- Yaver DS, Xu F, *et al.* (1996). *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 834-841.

APOIO

