

Obtenção de variantes genéticas de *Penicillium echinulatum*



Modalidade da bolsa:
PIBITI-CNPq

Projeto: CELU-PECT

Júlia Maiara dos Santos*, Roselei Claudete Fontana, Aldo José Pinheiro Dillon
Laboratório de Enzimas e Biomassas - *E-mail: jmsantos7@ucs.br

Introdução

O fungo *Penicillium echinulatum*, é um eficiente produtor de celulases e xilanases, enzimas responsáveis por degradar parte da parede vegetal das plantas. As endoglicosidases, beta-glicosidases e exoglicosidases são enzimas pertencentes ao complexo enzimático da celulase, capazes de catalisar a hidrólise da celulose. As xilanases por sua vez, são enzimas responsáveis pelo rompimento da cadeia de açúcares da hemicelulose, ou xilana.

Variante genéticas de *P. echinulatum* apresentam grande potencial biotecnológico, podendo ser utilizados na desconstrução da parede celular vegetal presente em resíduos agroindustriais, tais como o bagaço de cana-de-açúcar.

Neste trabalho, variantes de *P. echinulatum* obtidos para a produção de enzimas pertencentes às classes citadas anteriormente, foram avaliados quanto a produção de títulos enzimáticos.

Metodologia

Microrganismos

✓ Variantes de *P. echinulatum*

✓ Parental (S1M29)

J4M22 (1)

J4M22 (3)

M8J14

Cultivo submerso

Meio de cultivo composto de:

- ✓ 0,5% de celulose
- ✓ 0,2% farelo de soja
- ✓ 0,5% farelo de trigo
- ✓ 0,5% de sacarose
- ✓ 0,05% de prodex
- ✓ 0,2% de Tween
- ✓ 5% de solução de sais (MTV)

Os frascos foram mantidos sob agitação recíproca durante 96h, a 28°C.

Análise

- ✓ FPA (atividade sobre o papel filtro)
- ✓ Endoglicosidases
- ✓ Beta-glicosidases
- ✓ Exoglicosidases

Apoio



Resultados e discussão

Na Figura 1 são apresentados os dados de atividade enzimática dos três variantes selecionados na etapa de microcultivo. Verificou-se que nenhum variante alcançou a produção de FPA apresentada pela linhagem parental (S1M29). Para a atividade de endoglicosidases, o variante J4M22 (1), nos tempos de 72 e 96h atingiu atividades semelhantes ao parental. Para a atividade de xilanases, os variantes atingiram atividades semelhantes ao parental. Para beta-glicosidases observa-se também que nenhum variante foi superior ao parental, o mesmo acontecendo para a atividade de exoglicosidases.

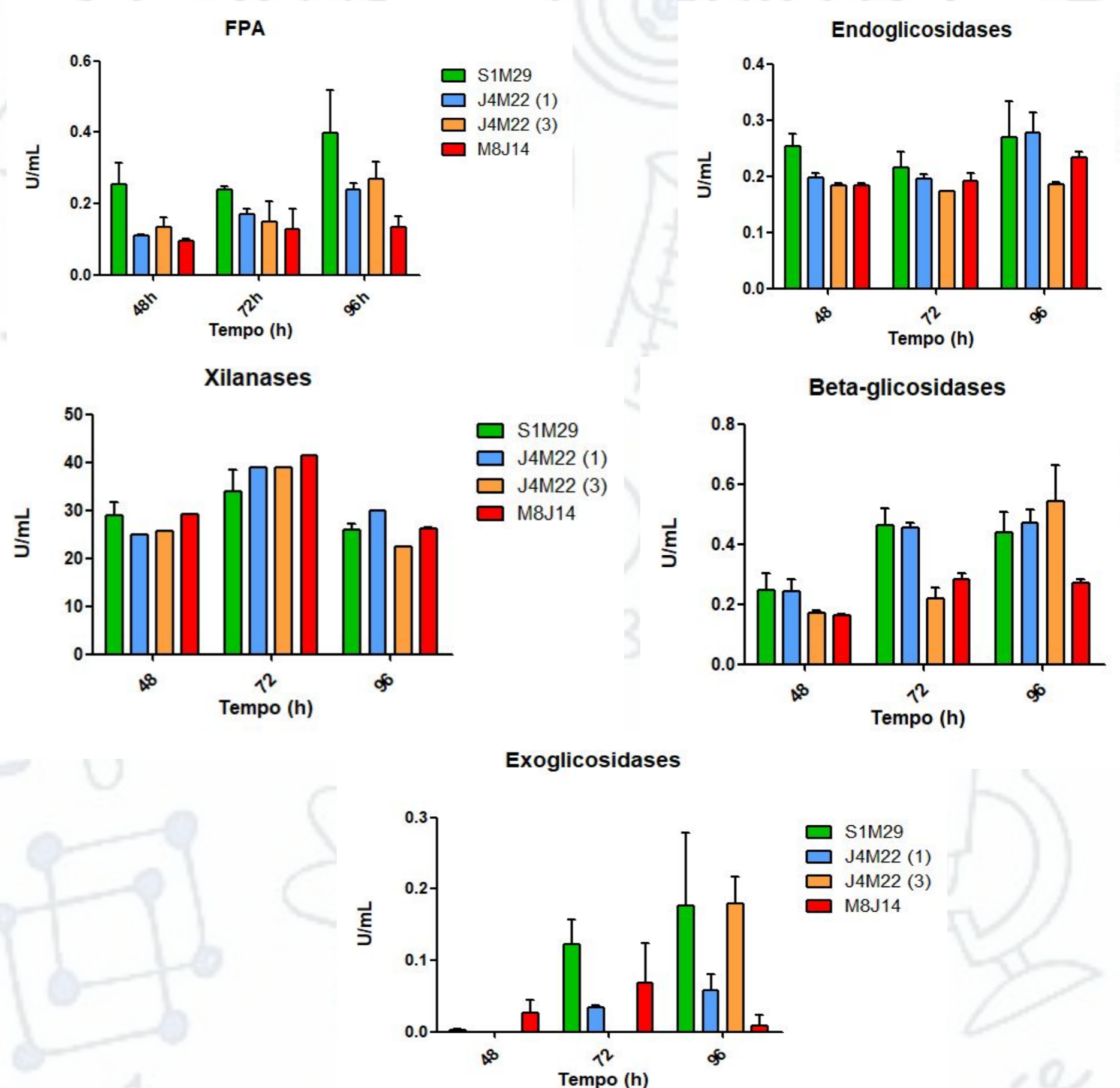


Figura 1. Atividades enzimáticas obtidas em cultivo de frascos pelo parental e fusionantes.

Considerações finais

Pela avaliação da atividade enzimática dos variantes obtidos por fusão de protoplastos, verificou-se que apesar da etapa anterior (microcultivo) ter indicado os três variantes com atividades enzimáticas superiores, esse resultado não se repetiu no cultivo submerso. Desta forma, conclui-se que a metodologia de fusão de protoplastos aplicada gera variabilidade. Em função dos resultados obtidos, é indicada a realização de novas fusões de protoplastos, a fim de obter novos variantes com uma maior expressão enzimática em relação ao parental.

Referências

- Bailey, M.J.; Biely, P.; Poutanen, K. (1992). Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *J. Biotechnol.* 23: 257-270.
- Camassola, M.; Dillon, A.J.P. (2012). Cellulase Determination: Modifications to Make the Filter Paper Assay Easy, Fast, Practical and Efficient. *J. Anal. Bioanal. Tech.* 1:1-4.
- Daroit, D.J.; Simonetti, A.; Hertz, P.F.; Brandelli, A. (2008). Purification and characterization of an extracellular β -glucosidase from *Monascus purpureus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 933-941.
- Deshpande, M. V.; Eriksson, K. E.; Pettersson, L. G. (1984). An assay for selective determination of exo-1,4-B-glucanases in a mixture of cellulolytic enzymes. *Anal. Biochem.* 238: 481-487.
- Ghose, T.K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure Appl. Chem.* 59: 257-268.