

**Letícia Clara Formolo Fonseca, Roselei Claudete Fontana, Aldo José Pinheiro Dillon**

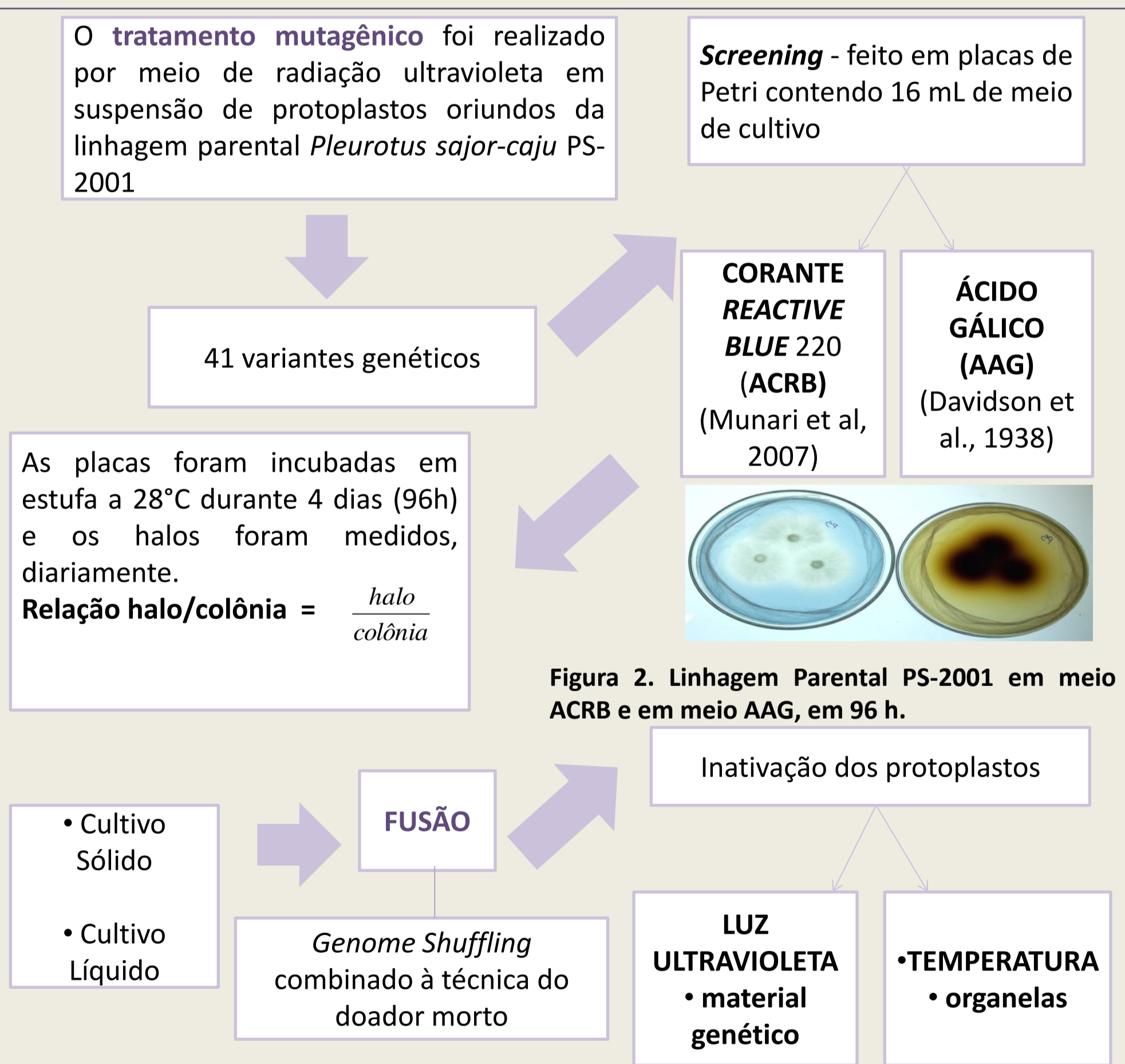
## INTRODUÇÃO

*Pleurotus sajor-caju* é um fungo basidiomiceto capaz de secretar enzimas ligninolíticas conhecidas como fenol-oxidases. Dentre essas enzimas encontram-se as lacases, que catalisam a oxidação de uma ampla faixa de aminas fenólicas e aromáticas. O uso de sistemas mediados por lacases é uma alternativa promissora como um processo biotecnológico de interesse ambiental, uma vez que, atuam no branqueamento de polpa de celulose, descoloração de corantes têxteis, tratamento de efluentes, remoção de compostos fenólicos, entre outros. Diante disso, com a utilização de protoplastos, como unidades alternativas de propagação em *Pleurotus sajor-caju* PS-2001, teve-se como objetivo a obtenção de linhagens variantes para a secreção de enzimas, após tratamento mutagênico. Além disso, buscou-se selecionar os variantes genéticos que mostraram maior destaque no decorrer das análises enzimáticas, a fim de, posteriormente, realizar a fusão de seus protoplastos, por meio da metodologia conhecida como *Genome Shuffling*, combinada à técnica do doador morto, visando a obtenção de recombinantes, de maior produção enzimática.



Figura 1. *Pleurotus sajor-caju*

## MATERIAIS E MÉTODOS



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mandels, M.; Reese, E. T. (1957). *J. Bacteriol.* 73: 269-278.

Munari FM, Gaio TA, Calloni R, Dillon AJP. 2007. *World J Microbiol Biotechnol*; in press.

Munari FM, Gaio TA, Dillon AJP. 2007.. *Biocatalysis and Biotransformation* 25:24-28.

Stajic M., et al. (2006). *Effect of different carbon and nitrogen sources on laccase and peroxidases production by selected Pleurotus species. Enzyme Microb. Technol.* 38: 65-73.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram obtidos 41 variantes genéticas, os quais foram submetidos, concomitantemente, a testes em meio ACRB e AAG.

### 41 variantes genéticas

4 mutantes → (H/C) superior a 0,97 ± 0,00 (PS-2001)

Variante genética	H/C
06-I	4,65 ± 0,72
39-III	3,32 ± 0,29
35-II	3,15 ± 0,52
39-I	3,10 ± 0,69

Meio ACRB

4 mutantes → (H/C) superior a 6,4 ± 0,25 (PS-2001)

Variante genética	H/C
07-II	9,50 ± 0,25
14-II	9,25 ± 0,25
34-I	8,15 ± 0,38
12	8,07 ± 1,15

Meio AAG

A linhagem parental e as linhagens variantes que se destacaram no *screening*, foram submetidas a cultivos em estados sólido e líquido para verificar a atividade das enzimas, principalmente, lacases. Ambos os cultivos tiveram duração de 12 dias.

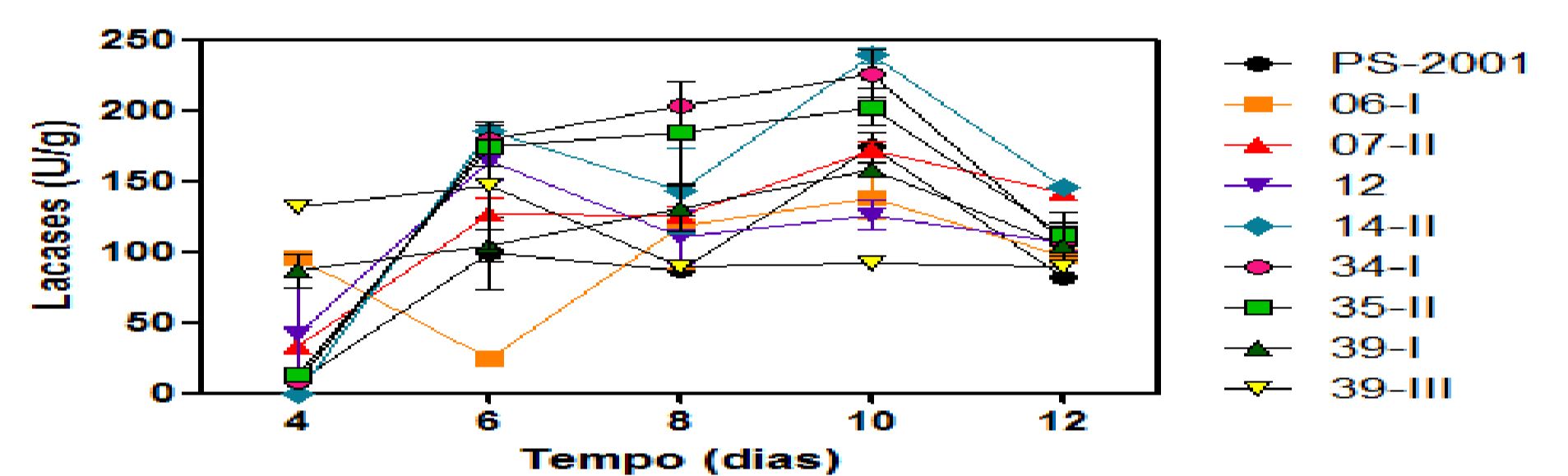


Figura 3. Atividade enzimática de lacases (U/g) de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 e seus variantes genéticos em cultivo em estado sólido.

✓ O pico enzimático para secreção de lacases em cultivo sólido ocorreu no 10º dia, desse modo, o parental PS-2001 apresentou 173,97 U/g de atividade enzimática, enquanto os seguintes variantes genéticos tiveram o nível de atividade enzimática superior, sendo, assim, apresentados com seus respectivos valores em U/g: 06-I (175,834); 35-II (202,39); 34-I (202,93) e 14-II (239,32).

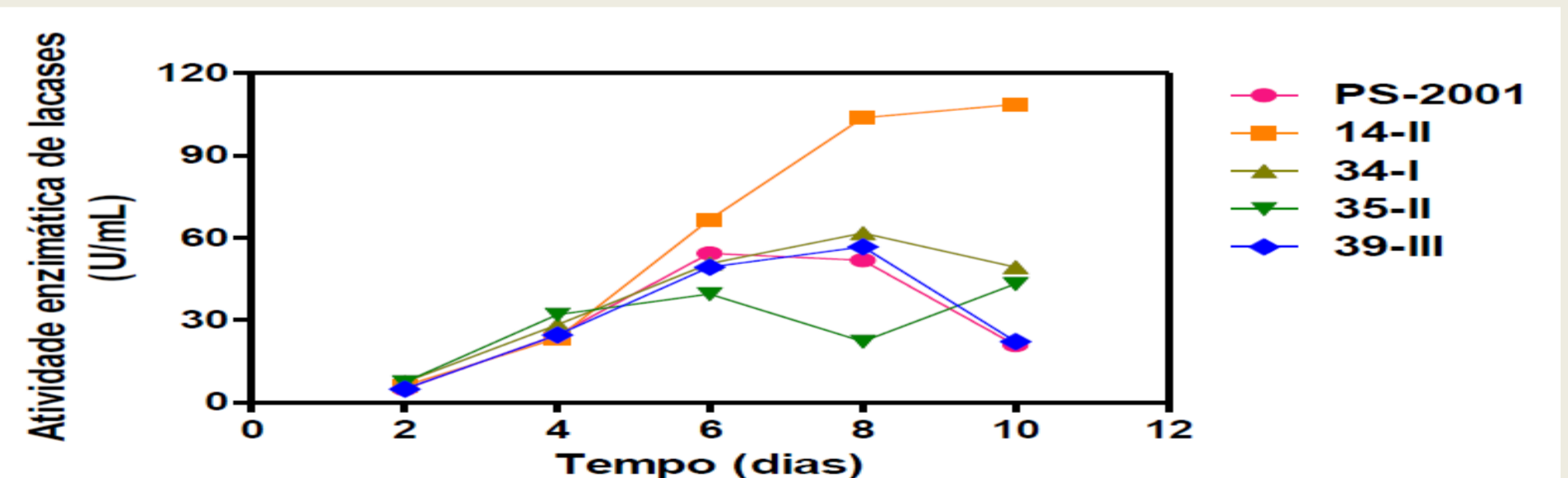


Figura 4. Atividade enzimática de lacases (U/mL) de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 e seus variantes genéticos em cultivo em estado líquido.

✓ Durante o cultivo líquido, o pico de atividade enzimática de lacases deu-se no 10º dia, tendo o variante 14-II, aproximadamente, 108,64 U/mL, enquanto a linhagem parental PS-2001 apresentou cerca de 20,98 U/mL.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

✓ Ao término das análises realizadas através de *screening*, assim como, em cultivos em estados sólido e líquido, infere-se que o tratamento mutagênico por meio de radiação ultravioleta em protoplastos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001, permite a obtenção de variantes genéticas para produção de lacases.

✓ A partir disso, os variantes genéticos 14-II e 35-II foram selecionados para a fusão de seus protoplastos, pois apresentaram genótipos com mutações de interesse.

✓ Os fusionantes serão isolados e testados em cultivo em estado sólido e em estado líquido, a fim de verificar-se a produção enzimática de lacases dos mesmos quando comparado ao parental PS-2001.