



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Avaliação da atividade de celulases de <i>Penicillium echinulatum</i> e variantes genéticas obtidos por "Genome shuffling"
Autor	MATHEUS MIGUEL FROES
Orientador	ALDO JOSÉ PINHEIRO DILLON
Instituição	Universidade de Caxias do Sul

Avaliação da atividade de celulases de *Penicillium echinulatum* e variantes genéticos obtidos por “Genome shuffling”

Matheus Miguel Froes, Orientador: Aldo José Pinheiro Dillon
Instituto de Biotecnologia , Universidade de Caxias do Sul

As celulases apresentam uma diversidade de aplicações industriais e constitui-se na alternativa enzimática para a produção de etanol de segunda geração a partir de lignocelulósicos. Variantes genéticos do fungo *Penicillium echinulatum* produzem cultivos líquidos ou sólidos com altas atividade sobre papel filtro (FPA) e β -glicosidases, capazes de hidrolisar celulose a glicose. Este potencial biotecnológico do *P. echinulatum* é consequência da aplicação de um programa de melhoramento genético com finalidade de aumentar a produtividade enzimática de linhagens. Uma técnica eficaz de melhoramento genético de microrganismos é a fusão de protoplastos, a qual permite recombinações genéticas envolvendo protoplastos de diferentes origens, podendo levar a obtenção de variantes com alterações genéticas, que tornam o processo de secreção de algumas proteínas enzimáticas mais eficientes. Nesse trabalho, a linhagem parental S1M29 de *P. echinulatum* e seus variantes genéticos 370 e 339-e, obtidos através de “Genome shuffling” (metodologia variante da fusão de protoplastos), foram submetidos a cultivo submerso para verificar a atividade de algumas enzimas do complexo celulases. Os ensaios em cultivo submerso foram realizados em quintuplicata, em frascos Erlenmeyer de 500 mL, contendo 100 mL de meio constituído de 1% celulose, 1% farelo de soja, 0,5% farelo de trigo, 0,5% de sacarose, sendo inoculados com 1×10^7 esporos/mL e mantidos em agitação recíproca de 180 rpm e temperatura de 28°C. A duração desse cultivo foi de 96 h sendo realizadas coletas a cada 24 h a partir de 48 h de ensaio. Com os caldos enzimáticos obtidos no cultivo submerso, foi possível mensurar as atividades enzimáticas de endoglicanase, exoglicanase e FPAse. Para realizar os testes de pH de reação foram utilizados tampões citrato (pH 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0) e acetato de sódio (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 e 6,0). Zimogramas de endoglicanase e exoglicanase foram realizados para avaliar as diferenças entre a produção de enzimas pelos variantes e o parental. A linhagem parental S1M29 teve seu pico enzimático para todas enzimas avaliadas em pH 4,5 em tampão citrato. Em relação aos variantes 370 e 339-e, quanto à atividade de FPA em ambos os tampões a atividade foi maior em pH 4,5. Em relação a atividade de endoglicanase, a maior atividade em tampão citrato foi da linhagem 339-e em pH 4, enquanto em tampão acetato o pico ficou em pH 4,5, sendo observado atividades superiores em tampão citrato. Para a atividade de exoglicanase, quando foi utilizado o tampão citrato, foram obtidas atividades superiores, apresentando uma característica importante de não ter apenas um valor de pH ideal de reação e sim uma faixa que vai de 3,5 a 5. No zimograma de endoglicanase a linhagem 370 apresentou uma banda adicional de massa molecular 15 kD em relação à linhagem parental e, para exoglicanases, ocorreu ausência da maior parte de suas bandas, restando apenas uma com massa molecular de 250 kD, enquanto o variante 339-e apresentou uma banda adicional de massa molecular de 75 kD em relação ao parental. De maneira geral, podemos destacar que as linhagens variantes 370 e 339-e apresentaram atividades enzimáticas significativamente superiores à linhagem parental S1M29, independentemente do tampão utilizado, comprovando que a fusão de protoplastos permite aumentar a secreção de enzimas de interesse tecnológico.

Palavras-chave: Celulases, fusão de protoplastos, *Penicillium echinulatum*