

Letícia Clara Formolo Fonseca, Aldo José Pinheiro Dillon

## INTRODUÇÃO

O fungo basidiomiceto *Pleurotus sajor-caju* é 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 amins fenólicas e aromáticas. O uso de sistemas mediados por lacases é uma alternativa promissora em relação aos processos biotecnológicos 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. Neste trabalho protoplastos da linhagem de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 foram tratados com agentes mutagênicos visando selecionar variantes com maior produção de lacases.



Figura 1. *Pleurotus sajor-caju*

## MATERIAIS E MÉTODOS

O tratamento mutagênico foi realizado por meio de radiação ultravioleta em suspensão de protoplastos oriundos da linhagem parental PS-2001.

**Screening** - feito em placas de Petri contendo 16 mL de meio de cultivo na presença de:

**CORANTE REACTIVE BLUE 220 (ACRB)** (Munari et al., 2007)

**ÁCIDO GÁLICO (AAG)** (Davidson et al., 1938)

41 variantes genéticas

As placas foram incubadas em estufa a 28°C durante 4 dias (96h) e os halos foram medidos, diariamente.

• **CÁLCULO:**

$$\text{Relação halo/colônia (cm)} = \frac{\text{halo}}{\text{colônia}}$$

## 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 0,97cm ±0,00 (PS-2001)

Variantes genéticas	H/C (cm)
06-I	4,65 ± 0,72
39-III	3,32 ± 0,29
35-II	3,15 ± 0,52
39-I	3,10 ± 0,69

Tabela 1. Meio ACRB

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

Variantes genéticas	H/C (cm)
07-II	9,50 ± 0,25
14-II	9,25 ± 0,25
34-I	8,15 ± 0,38
12	8,07 ± 1,15

Tabela 2. Meio AAG



Figura 2. Linhagem Parental PS-2001 em meio ACRB e em meio AAG, respectivamente, durante o screening em 96 horas.

A linhagem parental e os clones variantes que se destacaram no screening, foram submetidas a cultivo em estado sólido para verificar a atividade das enzimas, principalmente, lacases. O cultivo teve duração de 12 dias.

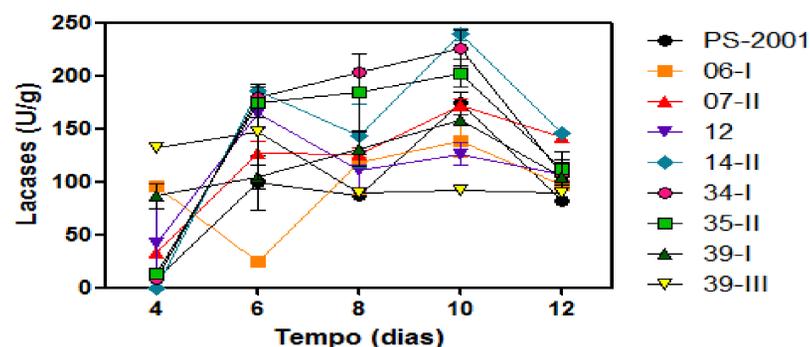


Figura 3. Atividade enzimática de lacases de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 e seus variantes genéticos em cultivo em estado sólido.

✓ O pico enzimático para secreção de lacases foi no 10º dia de cultivo, desse modo, o parental PS-2001 teve 173,97 U/g de atividade enzimática de lacases, 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).

✓ A atividade enzimática mostra-se mais precoce para alguns clones no 6º dia como é o caso dos mutantes 34-I (179,34); 35-II (174,91) e 39-III (147,41) em comparação à linhagem parental PS-2001 (99,01 U/g).

✓ No 12º dia, o que corresponde ao último dia de cultivo, o variante genético 14-II foi o que melhor se destacou em relação à atividade enzimática de lacases quando comparado à linhagem parental PS-2001, a qual apresentou 82,50 U/g. Com isso, o variante 14-II obteve 127,41 U/g, seguido, por 07-II (112,39), 34-I (107,61), 12 (107,56), 35-II (95,11), 39-I (95,05), 39-III (89,94) e, por fim, a linhagem variante 06-I com 69,97 U/g, sendo esta, portanto, a que apresentou o menor nível enzimático de lacases.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após o término das análises realizadas através de screening, assim como, em cultivo em estado sólido, infere-se com os resultados que, a técnica baseada no tratamento mutagênico por meio de radiação ultravioleta em protoplastos de *Pleurotus sajor-caju* PS-2001, permite o isolamento de variantes para produção de lacases.