

# Obtenção de variantes genéticos de *Penicillium echinulatum* S1M29 hiperprodutores de celulases, utilizando mutagênese com etilmetanosulfonato (EMS)

Letícia Guerra e Dr. Aldo José Pinheiro Dillon (orientador) – [lguerra@ucs.br](mailto:lguerra@ucs.br)  
Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia

## INTRODUÇÃO

As fontes de energia não-renováveis vem suprindo a crescente demanda energética do planeta, porém, o aumento da demanda e o surgimento e/ou agravamento de diversos problemas ambientais, decorrentes do uso desse tipo de energia, aumentou as buscas por fontes de energia renováveis e mais ecologicamente corretas. A biomassa vegetal tem sido muito estudada para a produção de biocombustíveis, por exemplo, o bioetanol. Por ser composta majoritariamente de celulose, a biomassa vegetal precisa ser convertida à moléculas de açúcares fermentescíveis, que possam ser utilizados nos processos biotecnológicos.

As celulases são um complexo enzimático que hidrolisam a celulose à glicose e são produzidas por diversos microrganismos, principalmente fungos e bactérias. A utilização de enzimas na indústria do etanol de segunda geração ainda é um gargalo devido aos altos custos de produção da enzima e baixos rendimentos das mesmas, dessa forma é necessária a otimização dos processos fermentativos, bem como, desenvolvimento de linhagens hiperprodutoras de celulases e que não sofram com o processo de repressão catabólica.

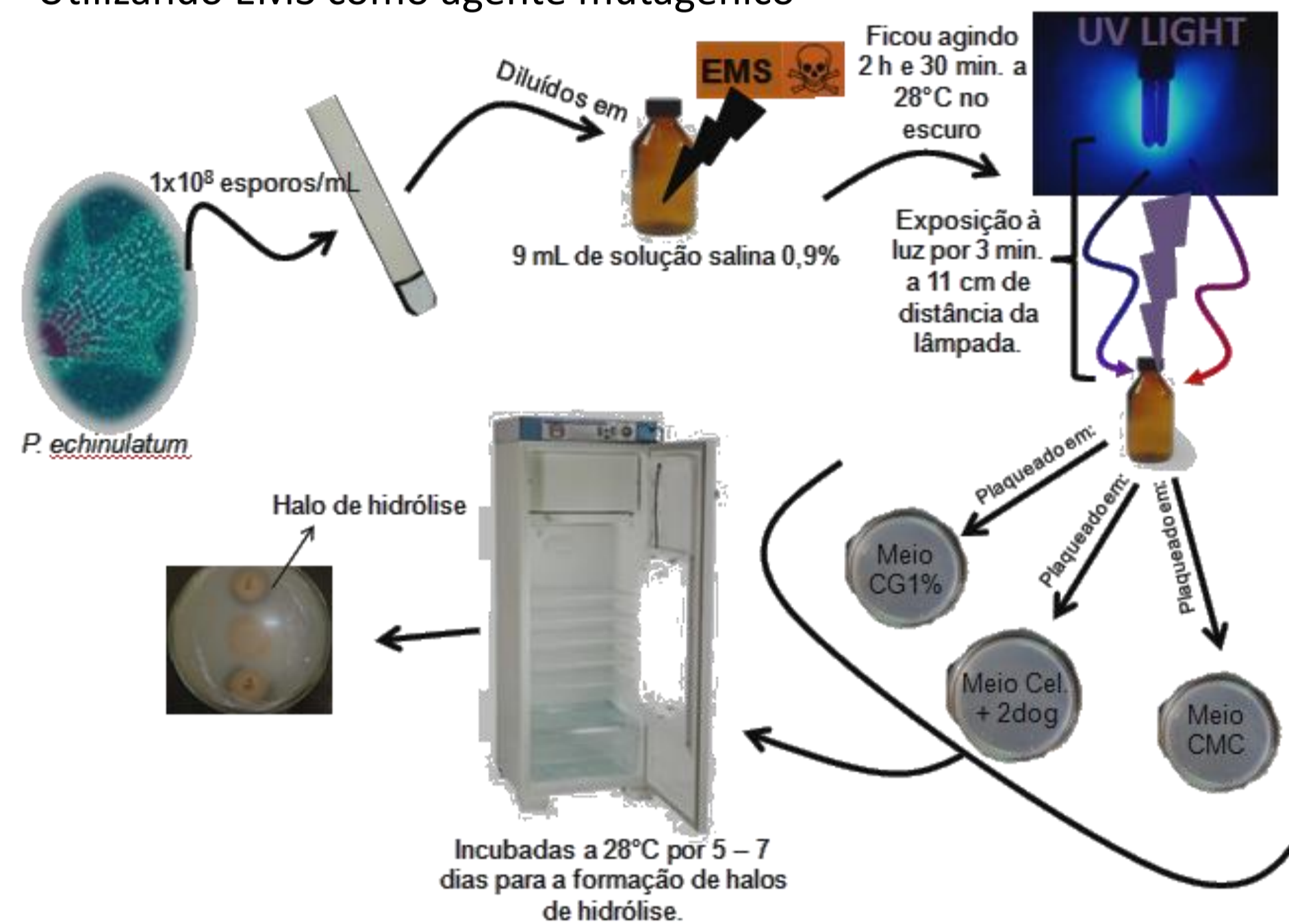
## OBJETIVO

Obter variantes genéticas hipercelulolíticas de *Penicillium echinulatum* S1M29, através de mutagênese utilizando etilmetanosulfonato (EMS).

## METODOLOGIA

### 1º MUTAGÊNESE:

- \* Foi realizada segundo o método descrito por Adsul (2007)
- \* Utilizando EMS como agente mutagênico



### 2º SELEÇÃO DE VARIANTES GENÉTICOS:

- \* Halos de hidrólise de celulose:

Placas contendo celulose como substrato, com ou sem 2-deoxiglicose foram utilizadas para a observação dos **halos de hidrólise**. Quando **maiores e/ou de crescimento mais rápido** que os da linhagem parental, o variante era selecionado para microfermentações.

- \* Microfermentações e microanálises:

Para avaliar o potencial secretor de celulases, bem como a estabilidade dos variantes, foram realizadas microfermentações.

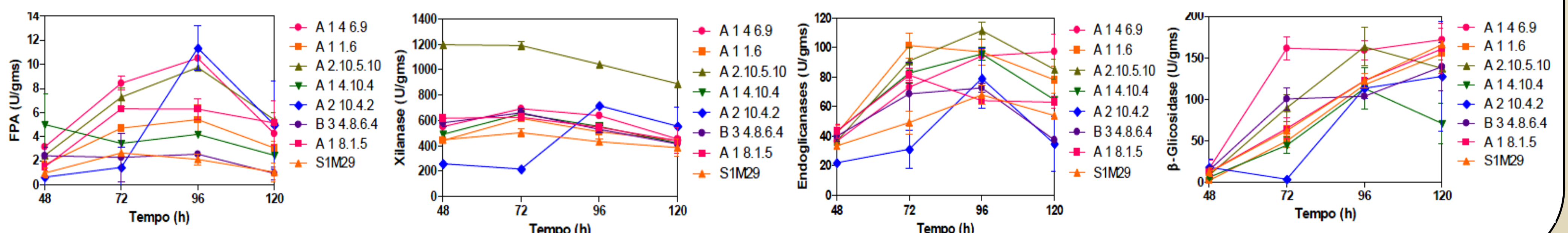


### 3º CULTIVOS EM ESTADO SÓLIDO E SUBMERSO:

Ao selecionar os possíveis mutantes, eles são submetidos a cultivos em estado sólido e submerso para avaliar a secreção das enzimas do complexo,  $\beta$ -glicosidases (Chahal, 1985), xilanases (Bailey *et al.*, 2003), endoglicanases e FPAses (Ghose, 1987).

## RESULTADOS

Resultados preliminares mostram que os maiores índices de secreção enzimática foram obtidos em cultivo sólido, onde dentre as 16 linhagens avaliadas o variante A2.10.5.10 apresentou maior produção de celulases para todas as enzimas avaliadas, sendo 9,7 U/gms para FPAses, 1200 U/gms para xilanases, 111,4 U/gms para endoglicanases e 163,2 U/gms para  $\beta$ -glicosidases, enquanto que a linhagem S1M29 apresentou, respectivamente, 2,11 U/gms, 502 U/gms, 67,9 U/gms, 125 U/gms.



## CONCLUSÕES

Os resultados, ao mostrar variação no tamanho e halo das colônias e também nos valores de açúcares redutores liberados, quando da utilização do método de *screening* por microanálises em cultivo submerso, indicam que a metodologia empregada está adequada para a seleção de novos variantes em *P. echinulatum* para a produção de celulases. O variante genético A2.10.5.10 mostrou ser melhor na secreção de todas as enzimas avaliadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adsul, M.G., *et al.* *Bioresource Technology*. 2007, 98: 1467-1473.  
Bailey, M.J.; *et al.* *Applied Microbiology Biotechnology*. 2003, 62:156-162.  
Ghose, T.K. *Pure and Applied Chemistry*. 1987, 59: 257-268.  
Chahal, D.S. *Applied and Environmental Microbiology*. 1985, 49: 205-210.  
Dillon, A. J. *et al.* *Journal of Applied Microbiology*. 2011, 111: 48-53.

AGRADECIMENTOS:

