

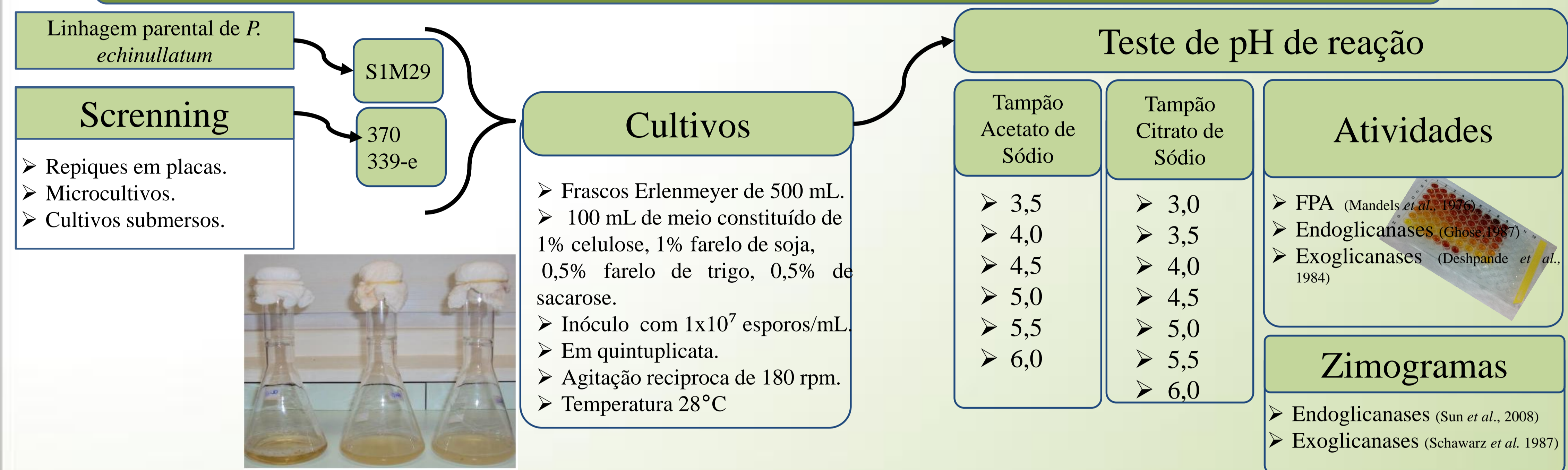
## Introdução

As enzimas do complexo das celulases apresentam uma diversidade de aplicações industriais e constitui-se em uma alternativa enzimática para a produção de etanol de segunda geração a partir da biomassa lignocelulósica. Diversos microrganismos são capazes de produzir este complexo enzimático, dentre eles, encontramos o fungo filamentososo *Penicillium echinulatum* que apresenta alto potencial biotecnológico por apresentar altas atividade sobre papel filtro (FPA) e  $\beta$ -glicosidases.

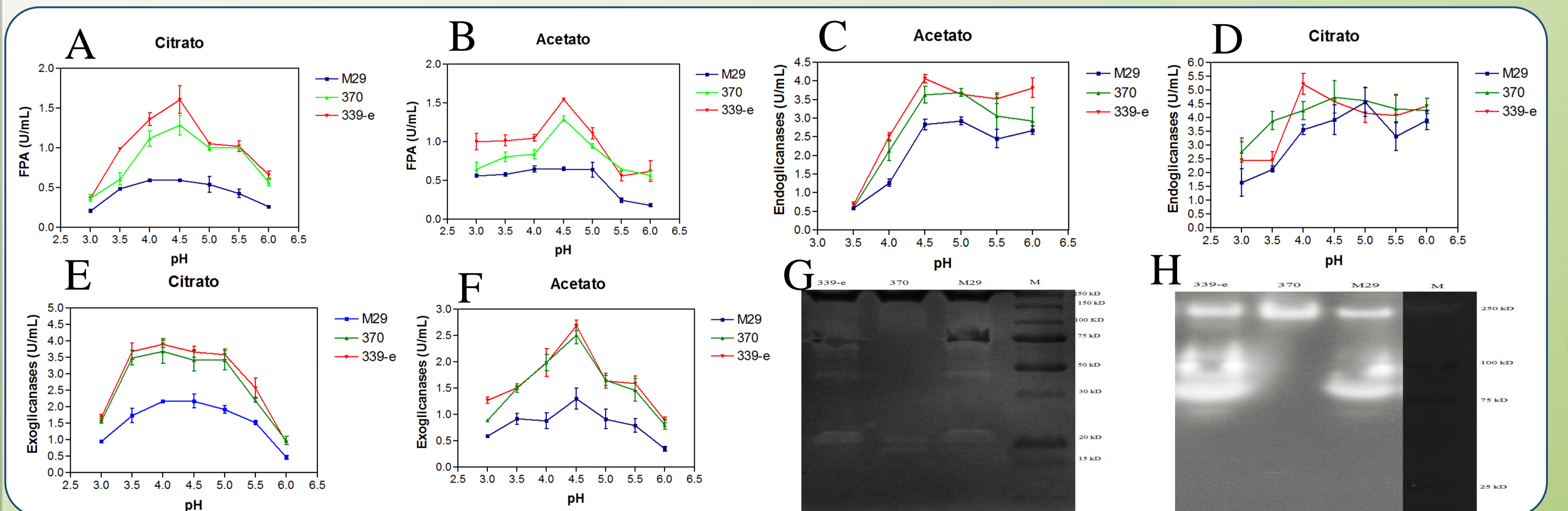
Para a utilização de linhagens de *P. echinulatum* em nível industrial torna-se necessário um programa de melhoramento genético com a finalidade de aumentar a produtividade enzimática das linhagens.

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.

## Materiais e Métodos



## Resultados e discussões



Para a atividade de FPA em ambos os tampões o pH ótimo ficou em 4,5. Para endoglicanases, atividades superiores foram obtidas em tampão citrato quando comparado com o acetato. Para exoglicanases o melhor tampão foi o citrato, apresentando uma característica importante, uma faixa de pH de reação que vai do pH 3,5 a 5.

No zimograma de endoglicanases o variante 370 apresentou uma banda adicional em relação ao parental, de massa molecular 15 kDa e, para exoglicanases, ocorreu ausência da maior parte das bandas, restando uma, com massa molecular de 250 kDa, enquanto o variante 339-e apresentou uma banda adicional relação ao parental, de massa molecular de 75 kDa.

## Considerações finais

Diante dos resultados obtidos, pode ser observado 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 permitiu aumentar a secreção das celulases.

## Referencias bibliográficas

- Camassola, M.; Bittencourt, L.R.; Sehnem N.T.; Andreas, J.; Dillon, A.J.P. (2004). Characterization of the cellulase complex of *Penicillium echinulatum*. *Biocatal. Biotransfor.* 22: 391-6.
- Dillon, A.J.P., Zorgi, C., Camassola M., Henriques J. A.P., Use of 2-deoxyglucose in liquid media for the selection of mutant strains of *Penicillium echinulatum* producing increased cellulase and  $\beta$ -glucosidase activities. *Applied Microbiology and Biotechnology* 70: 470-476, 2006.
- Dillon, A.J.P., Camassola M., Henriques J.A.P., Fungaro, M.; Azevedo, A., Velho, T. A.; Laguna, S.E.; Generation of recombinant strains to cellulases production by protoplast fusion between *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma harzianum*. *Enzyme and Microbial Technology* 43:403-409, 2008.
- Martins, L.F.; Kolling, D.; Camassola, M.; Dillon, A.J.P. Ramos, L.P. (2008). Comparison between *Penicillium echinulatum* and *Trichoderma reesei* cellulases in relation to their activity against various cellulosic substrates. *Bioresour. Technol.* 99: 1417-1424.
- Schwarz, W.H., Bronnenmeier, K., Grabnitz, F., Staudenbauer, W.L., Activity staining of cellulases in polyacrylamide gels containing mixed linkage-glucans. *Anal Biochem.* 1987; 164:72-77
- Sun, X.; Liu, Z.; Zheng, K.; Song, X.; Qu, Y. (2008). The composition of basal and induced cellulase systems in *Penicillium decubens* under induction or repression conditions. *Enzyme Microb. Technol.* 42:560-567.