



USO DE MARCADORES MOLECULARES PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS FÚNGICAS HIDROLÍTICAS EM BIOMASSA FLORESTAL DE USO ENERGÉTICO

Vitória Arend Castamann; Lorena Benathar Ballod Tavares; Juliane Andressa Chicatto; Cristiane Vieira Helm.

Marcadores bioquímicos, como a eletroforese, processo no qual consiste a migração de moléculas ionizadas de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares em campo elétrico, vem sendo utilizados na seleção de fungos Basidiomicetos de podridão branca. Tais organismos caracterizam-se por sua capacidade de degradar a lignina, hemicelulose e celulose por serem produtores de enzimas (coquetel de celulases) para sacarificação de biomassa para a produção de bioetanol. Diante desses fatores, utilizaram-se três isolados de *Letinula edodes* (EF 50, 49 e 52) como agentes de transformação. Para determinação do melhor meio de cultivo foram avaliados, através dos níveis das variáveis independentes utilizadas em ordem crescente (-1, 0, +1), os efeitos da alteração dos teores iniciais de nitrogênio (sulfato de amônia com concentrações de 0,1g/L, 2,5g/L e 5,0g/L, respectivamente) e de carbono (bagaço de cana com concentrações de 2g/L, 15g/L e 30g/L, respectivamente) como indutores na produção de xilanases e celulases. Foi realizado um planejamento fatorial 2², com 3 repetições no ponto central. Através de gráficos de superfície de resposta foi feita a análise dos dados obtidos em cultivo submerso, o qual foi realizado em frascos de erlenmeyers de 250 mL com 150 mL de meio de cultivo sintético, a 25°C por 7 dias, em agitador orbital a 150 rpm. O teor de proteínas totais foi determinado através do método de Bradford. As atividades de xilanases foram determinadas pela quantidade de açúcares redutores liberados, a partir de xilana “birchwood” (Sigma), as celulases endo β -1,4 glucanase e exo β -1,4 glucanase foram determinadas por espectrofotometria pelo método DNS e a β -celobiohidrolase pelo kit GOD-POD de glicose. Os resultados obtidos mostraram que a produção das enzimas hidrolíticas foi estimulada pela presença de alta concentração de bagaço de cana (30 g/L), caracterizando-o como agente indutor devido à relação de proporcionalidade demonstrada. Por sua vez, o sulfato de amônio atuou como redutor da síntese de enzimas, sendo as baixas concentrações (0,1 g/L) indicadas para o sistema de produção das enzimas em estudo. Quanto às linhagens, a EF 52 mostrou maior atividade para xilanase, endo β -1,4 glucanase e β -celobiohidrolase com valores da ordem de 1 UI/L. O proteoma relativo ao secretoma da linhagem selecionada foi analisado por meio de eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) fazendo uso de tampão para extração de proteínas e dosagem das amostras com concentração de 40 μ g de proteína para 100 μ l. Os resultados obtidos na leitura do gel não foram válidos, uma vez que as bandas de corrida das amostras não foram visualizadas, indicando que o procedimento de extração das proteínas enzimáticas não está adequado. Diante disso, torna-se necessária a realização de novos procedimentos para atendimento a demanda de análise proteômica de extratos fúngicos hidrolíticos.