

INFLUÊNCIA DA SALINIDADE NA PRODUÇÃO DE LACASES E NO PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA DO FUNGO

MARINHO *Peniophora* sp. CBMAI 1063

Eduardo C. P. Paes¹; Lara D. Sette¹; Igor V. R. Otero^{1*}

¹Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro/SP. *E-mail: igor.otero@unesp.br

Lacases são multicobre oxidases que possuem ampla aplicação biotecnológica. Essas enzimas são capazes de oxidar diferentes compostos fenólicos e amínicos, promovendo a polimerização ou degradação desses compostos. O fungo de origem marinha *Peniophora* sp. CBMAI 1063 é considerado um super produtor de lacases e possui 18 genes que codificam diferentes proteoformas dessa enzima. Como o ambiente marinho pode ter promovido a adaptação e seleção de lacases com maior tolerância a sais, o presente estudo teve como objetivo investigar a influência da salinidade na produção de lacases e no perfil de expressão dos 18 genes codificantes para lacase do fungo *Peniophora* sp. CBMAI 1063. O fungo foi cultivado em 50 mL de meio líquido otimizado para produção de lacases. Os frascos foram incubados a 28 °C e 140 RPM por 7 dias. Para esse experimento o meio foi produzido com 0, 1, 2, 3 e 4% de água do mar artificial (ASW). A condição com 0% de ASW foi considerada como controle. Foram realizadas análises de biomassa (massa seca), atividade enzimática e expressão gênica para cada uma das condições avaliadas, os experimentos foram realizados em triplicata técnica com dois experimentos independentes. A partir da biomassa foi realizada a extração do RNA total para a formação de bibliotecas de cDNA e análise da expressão gênica diferencial dos genes de lacase utilizando RT-qPCR. A quantificação foi feita pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$. O aumento da salinidade provocou aumento na produção de biomassa, com pico de produção de 6,0 g.L⁻¹ a 4% de ASW, indicando adaptação do fungo ao ambiente marinho. Contudo, o resultado foi inverso para a produção das enzimas, onde a maior taxa de produção foi na condição controle (0% ASW), com 7,6 U.L⁻¹ de lacase. O perfil de expressão gênica foi relativamente diferente nas quatro concentrações de salinidade testadas. O gene *Lac10* foi o mais expresso nas condições com 1 e 2% de ASW, enquanto o gene *Lac 1* foi o mais expresso nas condições com maior salinidade (3 e 4%). Os resultados indicam que a salinidade, como variável isolada, não é responsável pela indução da produção de lacases pelo fungo de origem marinha, mas colocam o gene *Lac1* e sua respectiva proteoforma em evidência como a lacase mais resistente a salinidade produzida por esse fungo. Os dados obtidos neste trabalho são relevantes para a compreensão da influência da salinidade na produção de lacases pelo basidiomiceto de origem marinha *Peniophora* sp. CBMAI 1063, e podem servir de base para novos estudos de expressão que visem a obtenção de lacases resistentes a ambientes salinos.

Palavras-chave: Basidiomiceto; multicobre oxidases; biotecnologia.

Agradecimentos: FAPESP #2018/12098-9; CNPq #305173/2023-5; CAPES #88887.839158/2023-00.