

MELHORAMENTO GENÉTICO EM *PENICILLIUM ECHINULATUM* PARA A PRODUÇÃO DE CELULASES POR FUSÃO DE PROTOPLASTOS UTILIZANDO A TÉCNICA DO DOADOR MORTO

Bárbara Lizandra Perini de Souza⁽¹⁾, Aldo José Pinheiro Dillon⁽²⁾ – Divisão de Processos Biotecnológicos, Instituto de Biotecnologia / Universidade de Caxias do Sul.

O estudo de fungos celulolíticos tem-se mostrado relevante, visando o interesse econômico do complexo celulases. No IB/UCS a 20 anos buscaram-se obter fungos filamentosos super secretores de celulases para utilização na indústria têxtil e para conversão biotecnológica de resíduos da agricultura em xaropes açucarados. A fusão de protoplastos é uma das alternativas de melhoramento em fungos deuteromicetos, onde pode ser possível recombinar genes de diferentes linhagens pelo ciclo parassexual. Neste trabalho, utilizou-se fusão de protoplastos para combinar genótipos de linhagens de *Penicillium echinulatum*, usando a técnica do doador morto. Nesta estratégia, ambas as linhagens têm seu micélio tratado com Glucanex, para quebra da parede celular. Os protoplastos resultantes da linhagem portadora de marca de resistência para benomil (9A02S1B9), são inativados ao calor de 60°C antes da etapa de fusão, induzida por PEG4000+Ca⁺⁺, com protoplastos da outra linhagem sensível a benomil (9A02D1). Após 24 horas de regeneração em meio líquido KCl 0,6M, os heterocários foram selecionados em meio contendo celulose intumescida e o inibidor benomil. Em todos os experimentos não houve crescimento nos controles, mostrando eficiência na inativação por calor e ausência de mutação espontânea, em *P. echinulatum* a resistência a benomil que está na ordem de 10⁻⁸. Em um dos experimentos, a frequência de colônias interpretadas como decorrentes de heterocários foi de 0,25%. Dos experimentos realizados obtivemos seis prováveis heterocários. Não foi verificado segregação, apenas formação de setores, quando protoplastos e suspensões de esporos foram plaqueados em meio com e sem inibidor. Após vários repiques com subclones foram selecionadas 28 colônias analisando precocidade, formação de halo e estabilidade. Destas foram selecionados sete com maior relação halo/colônia, com os quais realizaram-se testes com diferentes concentrações de benomil, os quais apresentaram variabilidade na resistência ao inibidor. A produção de celulases destes clones será avaliada pela secreção em regime agitado.

Palavras-chave: Celulases, Protoplastos, *Trichoderma*, *Penicillium*

(1) Bolsista de Iniciação Científica BIC/UCS

(2) Orientador