

## **MUTAGÊNESE COM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> E SELEÇÃO COM 2-DEOXIGLICOSE PARA A OBTENÇÃO DE VARIANTES GENÉTICOS PARA A PRODUÇÃO DE CELULASES NA LINHAGEM 9A02S1 DE *Penicillium echinulatum***

Fátima Grasiela Pozzan (Bolsa FINEP), Tahila Andrighetti, Mauricio Bettio, Marli Camassola, Aldo José Pinheiro Dillon (orientador) - [fgpozzan@ucs.br](mailto:fgpozzan@ucs.br)

O desenvolvimento de programas de melhoramento genético em microrganismos produtores de celulases são de grande importância para a redução dos custos do complexo enzimático em linhagens industriais. Entre as estratégias utilizadas de melhoramento, a técnica de mutagênese e seleção tem se mostrado efetiva com a obtenção de sucessivos ganhos de produção. Neste trabalho, visou-se à obtenção de mutantes desreprimidos e hiperprodutores de celulases a partir da linhagem de *Penicillium echinulatum*, denominada 9A02S1, obtida anteriormente por mutagênese. Para obtenção de novos variantes genéticos, empregou-se a metodologia de mutagênese com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seguida de enriquecimento em meio líquido com 2-deoxiglicose e seleção em placas de hidrólise com meio de celulose intumescida e carboximetilcelulose com e sem 2-deoxiglicose. Após, realizou-se screenings de comparação dos mutantes com o parental por meio de halos de hidrólise em placa, utilizando-se meio com celulose intumescida contendo 1% de glicose para avaliar o potencial secretor dos mutantes. Os resultados mostraram existência de variabilidade quanto ao tamanho das colônias e a formação de halo, indicando assim que a metodologia empregada para a seleção de mutantes foi eficaz. Para confirmar as suas capacidades secretoras de celulases, os mutantes que apresentaram maior halo comparados ao parental, estão sendo analisados por microfermentação estática e cultivo líquido com agitação em erlenmeyer contendo 100ml de meio afim de determinar a atividade enzimática de FPA. Dentre estes, destacou-se dois mutantes analisados em frascos agitados, o mutante 6 que apresentou atividade de 1,7U./ml-1 no 6º dia, enquanto que o parental atingiu o valor de 1,3U./ml-1 e o mutante F que no 5º dia apresentou atividade de 1,57U./ml-1 e o parental 1,3U./ml-1. Observando-se estes resultados, pode-se selecionar com maior eficiência os variantes genéticos obtidos por mutagênese, comparando-os com o parental por halos de hidrólise e por meio de atividade enzimática de FPA, tornando possível a seleção de novas linhagens hiperprodutoras do complexo celulases.

Palavras-chave: *Penicillium echinulatum*, celulases, 2-deoxiglicose.

Apoio: UCS, FINEP.