

MÉTODO DE SCREENING DE VARIANTES GENÉTICOS DE *Penicillium echinulatum* UTILIZANDO MICROFERMENTAÇÕES, VISANDO A OBTENÇÃO DE CELULASES.

Tahila Andrighetti (Bolsa Iniciação Profissional), Fátima Grasiela Pozzan, Marli Camassola, Aldo José Pinheiro Dillon (orientador) – tandrighetti@ucs.br

O maior desafio para a tecnologia do etanol de segunda geração é a redução dos custos de produção do complexo hidrolítico, cujo problema pode ser resolvido com a disponibilidade de variantes genéticas ou através da modificação do processo fermentativo ou ambos. Uma linhagem que apresenta potencial para hidrólise de lignocelulósicos é a 9A02S1 de *Penicillium echinulatum*, que foi obtida por mutagênese sendo o processo de seleção em placas de Petri. Esta técnica permite isolar variantes pela precocidade e tamanho de halos de hidrólise em celulose em placas de Petri. Entretanto, enquanto esta técnica foi útil no início do melhoramento esta não está mais permitindo a seleção de variantes, visto que aumentos muito superiores de secreção de celulases são necessários para a diferenciação de uma colônia padrão em placa de Petri. Para possibilitar o isolamento de variantes genéticas para a produção de celulases obtidos durante o programa de melhoramento genético de *Penicillium echinulatum*, foi desenvolvido um método que possibilita a análise de várias colônias provenientes da etapa de mutagênese ao mesmo tempo. Nesta metodologia de micro-análise, propõe-se uma micro-fermentação em cultivo submerso aonde volumes de 1,5 mL de meio de crescimento contendo celulose entumescida, são distribuídos em tubo eppendorf de 2 ml e autoclavados. Os tubos são semeados com uma alça de platina contendo conídios de colônias crescidas em placas de Petri, sendo os tubos em seu conjunto cobertos por gaze e algodão e mantidos por 4 dias a 28°C. Após as amostras são centrifugadas por 10 min a 10000rpm e o sobrenadante utilizado para a análise de FPA, sendo o tubo com o resto da solução enzimática e o precipitado de micélio mantido a 4°C, para repique da colônia, se necessário. Baseados no método proposto por Ghose (Pure. and Appl Chem 59:257--268. 1987), uma redução proporcional de volumes é utilizada para a análise de cada amostras, que são posteriormente colocadas em placas de Elisa com 96 poços e analisadas em Leitor de Elisa a 545 nm. Com esta metodologia está sendo possível o isolamento de variantes genéticas para a produção de celulases.

Palavras-chave: variantes genéticas, *Penicillium echinulatum*, celulases.

Apoio: UCS, CNPq.