

Mutantes para Produção de Celulases em *Penicillium echinulatum* obtidos com Emprego de H₂O₂, 2-deoxiglicose e Microfermentações

Maurício Bettio (BIC-UCS), Fátima Grasiela Pozzan, Tahila Andrighetti, Marli Camassola, Aldo José Pinheiro Dillon (orientador) - mbettio@ucs.br

A disponibilidade de complexos enzimáticos contendo exoglicanases, endoglicanases e β -glicosidases com custo suportável e eficiência hidrolítica, são o maior gargalo para a produção do etanol de segunda geração. Entre os complexos enzimáticos que apresentam potencial para serem empregados na hidrólise de lignocelulósicos, encontra-se o produzido pela linhagem mutante 9A02S1 de *Penicillium echinulatum*. Devido à importância desta linhagem para os processos de sacarificação da celulose, visando à redução dos custos de produção do complexo celulolítico, esta linhagem vem sendo alvo de um programa de melhoramento genético por mutagênese, que visa principalmente o aumento da produtividade enzimática. No presente trabalho, isolou-se um novo variante genético a partir da linhagem 9A02S1. Após mutagênese com H₂O₂, seguida das etapas de “screening” que envolveu seleção em placas de Petri em meio suplementado com 2-deoxiglicose para avaliar halos de hidrólise, microfermentações em cultivo submerso e microanálises, ambas realizadas em tubos eppendorf, obteve-se um novo clone, denominado S1M29. Em etapa posterior, o clone e seu parental, foram submetidos a ensaio fermentativo em frascos Erlenmeyer de 500 mL, inoculados com 1×10^7 conídios, contendo 100 mL de meio, constituído de 10% (v/v) 10x MS (meio de sais minerais), 1% (m/v) de celulose micropulverizada, 0,2% (m/v) de farelo de soja, 0,5% (m/v) de farelo de trigo e 0,1% (v/v) de Tween 80. Este meio recebeu adição de glicose ou sacarose em quantidades de 0,5% ou 1%. Os frascos foram mantidos em regime de agitação recíproca em frequência de agitação de 180 rpm, a 28°C, durante 6 dias, sendo que foram realizadas coletas de alíquotas de 2 mL a cada 24 horas, a partir do terceiro dia de cultivo para a realização de análises enzimáticas através da quantificação dos açúcares redutores pelo método DNS. Os dados do presente trabalho mostram claramente que as metodologias de melhoramento genético e de seleção empregadas permitem isolar variantes para a secreção de celulases em *P. echinulatum*. Além disso, o novo clone S1M29 de *P. echinulatum* torna-se o melhor mutante celulolítico desta espécie e os resultados obtidos permitem sugerir que um meio formulado com 0,5% de sacarose permite obter um complexo celulolítico favorável para a hidrólise da celulose, devido a precocidade de suas enzimas.

Palavras-chave: *Penicillium echinulatum*, celulases, mutagênese.

Apoio: UCS, CNPq.