



VARIANTES OBTIDOS POR MUTAGÊNESE DE PROTOPLASTOS EM *PLEUROTUS SAJOR-CAJU PS-2001*

Aline Ganzer Mezzomo (PIBIC/CNPq), Aldo José Pinheiro Dillon (Orientador(a))

Os basidiomicetos, conhecidos como fungos da podridão branca da madeira, produzem enzimas extracelulares capazes de mineralizar os componentes da lignina presentes na parede celular.

Entre estas enzimas, as lacases, que são cobre-proteínas, isoladamente ou na presença de mediadores catalisam a oxidação de substratos fenólicos e não fenólicos acoplada à redução do oxigênio à água. Estas enzimas podem agir sobre uma ampla faixa de compostos fenólicos e aminas aromáticas. Devido a esta propriedade, as lacases têm alto potencial aplicativo em processos biotecnológicos, pois podem detoxificar compostos fenólicos xenobióticos como os corantes presentes em efluentes da indústria têxtil. Porém, os processos de produção ainda precisam ser otimizados. Vários estudos procuram melhorar a produtividade dessa enzima modificando parâmetros do processo de cultivo, ou pela alteração do meio de cultura, com a adição de indutores e modificação das fontes de nutrientes. Outra estratégia para melhorar a produtividade é dispor de variantes genéticas hipersecretoras de lacases. Uma alternativa para induzir variabilidade é a mutagênese, quando acoplada a uma etapa de seleção eficiente dos variantes.

Neste trabalho, foram obtidos clones a partir de protoplastos de *Pleurotus sajor-caju* tratados com radiação UV a fim de obter variabilidade para secreção de lacases. Para obtenção dos protoplastos, a linhagem foi cultivada em meio líquido e após o micélio foi filtrado e transferido para uma solução hipertônica contendo quitinases, para promover a degradação da parede celular. Posteriormente os protoplastos foram então expostos a radiação UV e transferidos para o meio visando a regeneração da parede celular. Após 72h as suspensões foram plaqueadas em Meio de Seleção contendo corante Reactive Blue, que permite a identificação de colônias formadoras de halo maiores ou mais precoces de descoloração do corante. Os variantes selecionados foram testados em fermentação sólida para a determinação de perfil de secreção de lacases em comparação à linhagem parental. O pico enzimático foi alcançado no 5º dia de cultivo. Duas colônias apresentaram atividade enzimática de lacases de 1,98 a 2,33 vezes maiores em relação a parental, mostrando a eficiência da metodologia para a obtenção de variantes de *P. sajor-caju* com maiores secreções de lacases.

Palavras-chave: protoplasto, mutagênese, *Pleurotus sajor-caju*.

Apoio: UCS, CNPq