



SELEÇÃO DE FUSIONANTES ENTRE LINHAGENS MUTANTES DE *PENICILLIUM ECHINULATUM* PARA A OTIMIZAÇÃO DA SECREÇÃO DE CELULASES

Micael Montemezzo (PIBIC/CNPq), Tiago Selau Rodrigues, Marli Camassola, Aldo José Pinheiro Dillon (Orientador(a))

O maior desafio enfrentado pela nascente indústria do etanol, a partir de lignocelulósicos, é a diminuição nos custos de produção do complexo enzimático hidrolítico, principalmente relacionados a produtividade do complexo enzimático. Estratégias de aumento da produtividade enzimática tem focado tanto a interferência no processo fermentativo, como também, a disponibilidade de linhagens de microrganismos super-secretoras de enzimas. As linhagens industriais produtoras do complexo celulolítico, como as de *Trichoderma reesei*, foram resultantes de programas de melhoramento genético, que envolveram mutação e seleção, entretanto sem o uso de processos recombinantes, via ciclo parassexual, que potencialmente, poderiam colaborar no melhoramento genético. Neste trabalho foi utilizado um programa de melhoramento que envolve a técnica da fusão recursiva, na qual, o produto de um experimento será utilizado para a realização de um próximo em duas ou mais etapas, aumentando assim, as chances de obtenção de uma linhagem melhor secretora de celulases. As linhagens mutantes utilizadas para o experimento foram denominadas W3, E10, K4 e N15. Para a remoção da parede fúngica e obtenção de protoplastos, uma solução com o produto enzimático comercial Glucanex® foi utilizada. Os protoplastos foram inativados com calor de 50°C, e a duplicata dos mesmos, com inativação a partir de irradiação ultravioleta, antes da etapa da fusão, que foi induzida com solução de PEG4000 e Ca⁺⁺. Após 24 horas em meio líquido e regeneração contendo KCl 0,6M, colônias provenientes dos heterocários foram selecionados em meio contendo celulose intumescida. As placas contendo os clones foram repicadas sucessivamente visando à estabilização genética dos clones, caracterizada pela homogeneidade e repetibilidade nos halos. Foram realizados cerca de 6-7 repiques de cada colônia. Ao final do processo para estabilização, foram obtidas cerca de 240 placas com 4 colônias em cada uma. Os clones que apresentaram halos maiores de hidrólise estão sendo submetidos à análise de micro-fermentação para mensuração da capacidade de liberar açúcares redutores dos filtrados enzimáticos. Os selecionados serão posteriormente avaliados cultivos envolvendo frascos agitados de 500mL, para a determinação de FPAases, endoglucanases e β-glicosidases.

Palavras-chave: *Penicillium echinulatum*, fusão de protoplastos, celulases.

Apoio: UCS, CNPq.