

## XVIII Encontro de Jovens Pesquisadores Universidade de Caxias do Sul - 2010

### **Método de *Screening* de Variantes Genéticos Celulolíticos de *Penicillium echinulatum*, Empregando Mutagênese com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Seleção com 2-deoxiglicose e Microfermentações**

Letícia Guerra (BIC/UCS), Marli Camassola, Micael Montemezzo, Maurício Bettio, Kátia Albani, Aldo José Pinheiro Dillon (Orientador(a))

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. O desenvolvimento de programas de melhoramento genético é importante para a redução desses custos, pois a técnica de mutagênese e seleção tem se mostrado efetiva com a obtenção de sucessivos ganhos de produção. Neste trabalho, visou-se a obtenção de mutantes desreprimidos e hiperprodutores de celulasas a partir da linhagem de *Penicillium echinulatum* (9A02S1). Para a obtenção de novas variantes genéticas, empregou-se a metodologia de mutagênese com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e seleção em placas de hidrólise com meio de celulose intumescida e 2-deoxiglicose. Para avaliar o potencial secretor dos mutantes, foram realizados “screenings”, utilizando meio duas camadas para melhor visualização dos halos de hidrólise. Posteriormente, microfermentações foram realizadas em cultivo submerso em eppendorfs de 2mL com volume de 1,5mL de meio de crescimento contendo celulose intumescida. Os eppendorfs foram inoculados com um disco de 0,5cm das colônias crescidas. Os eppendorfs foram cobertos por gaze e algodão, mantidos por 4 dias a 28°C. Após, foram centrifugadas por 10 min a 10000 g e o sobrenadante foi empregado para análise de FPA, baseado no método proposto por Ghose, *Pure Appl Chem* 59:257-268, 1987, entretanto com uma redução proporcional de volumes na análise de cada amostra, que foram posteriormente lidas a 545 nm. A avaliação do potencial de secreção dos mutantes a partir do halo produzido, proporcionou a seleção de variantes que foram submetidos a microfermentação, sendo que destes um clone denominado S1 33 apresentou secreção enzimática superior aos demais quanto a capacidade de liberar açúcares redutores de papel de filtro. Esses possíveis hiperprodutores serão submetidos a análises de FPA, β-glicosidase e endoglicanases a partir de um cultivo submerso em frascos mantidos sob regime de agitação recíproca. Com essa metodologia está sendo possível o isolamento de variantes genéticas para a produção de celulasas.

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

Apoio: UCS, CNPq.