

XVIII Encontro de Jovens Pesquisadores

Universidade de Caxias do Sul - 2010

Obtenção de recombinantes entre mutantes de *Penicillium echinulatum* para a produção de celulases por fusão de protoplastos

Micael Montemezzo (PIBIC/CNPq), Edna Laís Bertin, Mauricio Bettio, Marli Camassola, Aldo José Pinheiro Dillon (Orientador(a))

Um dos maiores desafios enfrentados na atualidade pela indústria do etanol a partir de lignocelulósicos é a diminuição nos custos de produção do complexo enzimático hidrolítico. Visando resolver esta problemática, métodos de melhoramento genético e processos fermentativos são utilizados. Um dos métodos usados é a mutagênese de linhagens e outro método é a fusão de protoplastos, entre os variantes obtidos por mutagênese, que ao permitir o desenvolvimento do ciclo parassexual, se constitui de uma alternativa para o melhoramento genético de fungos. Neste trabalho foram obtidos fusionantes entre linhagens obtidas por mutagênese na linhagem 9AO2S1 de *Penicillium echinulatum*, denominadas M32, M35, A10 e E, que apresentaram maior atividade enzimática se comparados ao parental. Para a obtenção de protoplastos, uma solução com o produto enzimático comercial Glucanex foi utilizada a fim de quebrar a parede celular. Esses 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 de regeneração contendo KCl 0,6M, esses heterocáries foram selecionados em meio contendo celulose intumescida. Os clones que apresentaram halos maiores de hidrólise foram submetidos à análise de microfermentação e mensuração da capacidade de liberar açúcares redutores dos filtrados enzimáticos. Nesta etapa foi possível a seleção de 4 clones fusionantes, que mostraram maior liberação de açúcares redutores de papel de filtro nas microfermentações W3 (1,73 mg.mL⁻¹), E10 (1,67 mg.mL⁻¹), K4 (1,62 mg.mL⁻¹) e N15 (1,98 mg.mL⁻¹). Estes clones serão posteriormente analisados em cultivo submerso em frascos agitados para estudo quantitativo de atividades enzimáticas e serão utilizados em um segundo rond de fusão de protoplastos.

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

Apoio: UCS, CNPq.