

Utilização de Protoplastos do Fungo *Pleurotus sajor-caju* PS-2001 para a Obtenção de Mutantes Secretores de Lacases

Aline Ganzer Mezzomo (PIBIC-CNPq), Raquel Calloni, Letícia Rosa Frizzo, Aldo José Pinheiro Dillon (orientador) - aline.mezzomo@hotmail.com

Devido às propriedades saprofítica e lignolítica do basidiomiceto *Pleurotus sajor-caju*, este produz, durante o seu crescimento, um grupo enzimático conhecido como fenol-oxidases. Nesse grupo destacam-se as lacases, as quais se caracterizam por não serem específicas quanto ao substrato e apresentarem capacidade de atuar sobre uma variedade de substratos semelhantes à lignina. Dessa forma, as lacases constituem uma alternativa para processos biotecnológicos de remediação de danos ambientais, tais como detoxificação de efluentes e descoloração de corantes têxteis, porém o custo de produção destas enzimas é muito elevado. Uma possível estratégia para melhorar a produção destas enzimas produzidas pelos basidiomicetos é a obtenção de variantes genéticas a partir de protoplastos que foram tratados com substâncias mutagênicas. Em vista disso, o objetivo deste trabalho é obter linhagens que produzam maior quantidade desta enzima a partir da linhagem de *P. sajor-caju* PS-2001. No procedimento para obter variantes genéticas a linhagem é cultivada em meio líquido sob agitação de 40 rpm à 28°C (-2°C). Após 24 horas, 200 miligramas de micélio são tratadas com uma solução de quitinase 10g/L para degradação da parede celular e obtenção de protoplastos que são submetidos à radiação UV por 2,5 minutos para induzir a mutagênese, e após, mantidos por 72 horas à 28°C em uma solução para regeneração da parede celular. A suspensão é espalhada em placas de Petri com meio de seleção contendo corante Reactive Blue. Nas placas é observado a formação de halo de degradação do corante, devido à secreção de lacases. Colônias são selecionadas por apresentarem halo precoce ou maior em relação ao parental. Em placa contendo corante Reactive Blue os variantes selecionados obtiveram colônias com diferentes aspectos morfológicos e de produção de halo de descoloração do corante. O variante H02/2008 teve relação halo/colônia duplicada em relação ao parental PS-2001. As colônias selecionadas apresentaram, quando cultivadas em Meio de Manutenção, diferentes aspectos morfológicos assim como diferentes velocidades de colonização da placa, os variantes B03/2008, F07/2008 e H02/2008 apresentaram menor velocidade de crescimento de suas colônias em relação ao parental. Essas diferenças entre as colônias demonstram variabilidade obtida pelo processo de mutagênese de protoplasto.

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

Apoio: UCS, CNPq.