

## MELHORAMENTO GENÉTICO DE *ASPERGILLUS NIGER* 3T5B8 VISANDO AUMENTO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS

Jhébica Couto Araújo (1); Daniela Gurgel de Freitas (1); Thais Demarchi Mendes (1); Mariana Santos Tamietti (1); Edna Maria Morais Oliveira (2); Mônica Caraméz Triches Damaso (1); Léia Cecília de Lima Fávoro (1)

(1) Embrapa Agroenergia; (2) Embrapa Agroindústria de Alimentos

**Introdução.** Para viabilizar a produção de etanol a partir de biomassa lignocelulósica é necessário que haja aumento da eficiência de hidrólise enzimática, bem como diminuição do custo de produção de enzimas. Diante deste desafio este trabalho iniciou um programa de melhoramento por mutação/seleção recorrente de *A. niger* 3T5B8, visando aumento da produção de FPase,  $\beta$ -glicosidase e pectinase. **Métodos e Resultados.** Inicialmente foi determinada a dose dos agentes mutagênicos etilmetanossulfonato (EMS) e ultravioleta (UV) a ser utilizada para obtenção de 1-10% de sobrevivência. Conídios ( $1 \times 10^6$ /mL) foram tratados com UV por até 7,5 minutos e com solução de EMS 2% durante 1, 4 e 18 horas. O tempo de exposição para obtenção de 1-10% de sobrevivência foi 7,5 minutos para UV e 18 horas para EMS. O primeiro ciclo de mutagênese foi realizado com UV, seguido de plaqueamento em meios de cultura seletivos (avicel, carboximetilcelulose, pectina cítrica, xilana). Conídios não irradiados foram usados como controle. As placas foram reveladas com corantes vermelho congo e lugol para seleção de mutantes com índice enzimático ( $IE = \text{diâmetro do halo de degradação} / \text{diâmetro da colônia}$ ) superior ao da linhagem parental. No primeiro ciclo de mutagênese foram obtidos mais de 2000 linhagens, preservadas em óleo mineral. Destes, foram selecionadas 30 linhagens que apresentaram IE superior ao da linhagem parental para pelo menos uma das enzimas avaliadas. A avaliação quantitativa de FPase,  $\beta$ -glicosidase e poligalacturonase foi realizada em ensaios miniaturizados. O sobrenadante do cultivo da linhagem parental apresentou atividade  $\beta$ -glicosidase de  $2,5 \mu\text{mL}^{-1}$  ( $\pm 0,04$ ), enquanto somente uma linhagem apresentou atividade ligeiramente superior ( $2,8 \mu\text{mL}^{-1} \pm 0,12$ ). Três linhagens apresentaram alta atividade de poligalacturonase ( $163,0 (\pm 7,0)$ ;  $34,7 (\pm 0,9)$  e  $25,5 (\pm 2,7) \mu\text{mL}^{-1}$ ), porém não foi detectada atividade desta enzima na linhagem parental. Não foi detectada produção de FPase em nenhuma das linhagens. **Conclusão.** O agente mutagênico UV foi eficiente para obtenção de linhagens pectinolíticas de *A. niger* 3T5B8. Os testes miniaturizados são uma alternativa para análise rápida do grande número de mutantes obtidos. Os mutantes selecionados serão submetidos a novo ciclo de mutação, a fim de se obter linhagens superiores. Em virtude do foco do trabalho ser o aumento equilibrado da produção de FPase,  $\beta$ -glicosidase e pectinase, novos mutantes serão avaliados com esta finalidade. **Apoio financeiro:** Embrapa.