

Otimização de metodologia para produção e regeneração de protoplastos de *Trichoderma* spp./Optimization of methodology for production and regeneration of protoplasts of *Trichoderma* spp. A.O.B. Seabra¹; M. Lobo Junior², M.V.C.B. Côrtes². ¹PUC/GO, Goiânia-GO. ²Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia 462 km 12, Zona Rural, Santo Antônio de Goiás - GO, CP 179. E-mail: aobseabra@hotmail.com

Trichoderma spp. são fungos amplamente estudados como agentes de controle biológico. É possível melhorar a sua capacidade natural de biocontrole ou promoção de crescimento por meio de métodos de melhoramento como a fusão de protoplastos. O trabalho objetivou estabelecer um protocolo para obtenção de protoplastos de *Trichoderma*, estabelecendo concentrações líticas, estabilizadores osmóticos, tempos de protoplastização e de regeneração. Cultivou-se o isolado TR-601 de *T. harzianum* em meio BDA por 4 dias a 25°C. 1 mL de suspensão de conídios a $1,0 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹ foi transferida para erlenmyer contendo 100 mL de meio BD, incubou-se sob agitação à 150 rpm por 48 horas, a 24°C. Em seguida, o micélio foi filtrado e lavado com o estabilizador osmótico KCl (0,7M, pH 5,7). Para protoplastização, a cada 100 mg de micélio úmido, utilizou-se 5 mL de KCl e enzima lítica, em duas concentrações (5 e 10 mg). A suspensão foi submetida à agitação a 70 rpm a 25°C. O ensaio foi realizado em triplicata (tubo falcon 15mL), onde se encontravam as concentrações enzimáticas e a testemunha, livre de enzimas. Os protoplastos foram observados em microscópio óptico de hora em hora, por quatro horas com quantificação em câmara de Neubauer. A regeneração foi realizada plaqueando-se 500µL da suspensão com 15 mL de Meio Completo, acrescido de KCl, 0,7M. Após a regeneração dos protoplastos, verificou-se uma média de 87,6 e 121 colônias de *T. harzianum* recuperadas por placa, respectivamente, para as concentrações de 5 e 10 mg da enzima lítica.

Palavras chave: controle biológico, promoção do crescimento de plantas