

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE LEVEDURAS ASSOCIADAS A ARBÓREAS NATIVAS BRASILEIRAS

Maria Fernanda Werlang Momoli¹; Fernanda Leite Stella^{1,2}; João Pedro Valcazara¹;

Mariana Machado Fidelis do Nascimento^{1*}; Juliana Vitória Messias Bittencourt¹

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná. ²Universidade Estadual do Centro-Oeste *E-mail do autor apresentador: marifideliss@gmail.com

As leveduras são microrganismos versáteis, e por realizarem respiração anaeróbia e fermentação, são empregadas na produção de alimentos fermentados. A espécie *Saccharomyces cerevisiae* tem sido uma das leveduras mais utilizadas para produção de produtos fermentados, devido ao seu grande potencial de aplicabilidade industrial, sendo considerada organismo eucariótico modelo por sua segurança na manipulação, rápido desenvolvimento, fácil armazenamento e manipulação genética prática. Este trabalho teve como objetivo a identificação molecular de leveduras isoladas de arbóreas nativas brasileiras depositadas na Coleção Microbiológica da Rede Paranaense. As leveduras utilizadas são oriundas de um estudo que isolou leveduras de cascas de diferentes arbóreas nativas, entre elas a *Psidium guajava* (goiabeira), *Myrciaria cauliflora* (jabuticabeira) e *Morus nigra* (amoreira) em duas condições edafoclimáticas diferentes, no estado do Paraná (Castro) e no estado de São Paulo (Itapeva). A biodiversidade brasileira oferece ambiente singular para desenvolvimento de espécies microbianas em sinergismo. Recentemente foram elucidadas a relação e associação de *S. cerevisiae* a cascas de certas árvores, assim como solos adjacentes. O projeto de ida a campo e isolamento de leveduras realizou depósito na CMRP Laboratório associado UTFPR Ponta Grossa, para tanto, foram registradas informações como local de coleta de matéria, com as coordenadas geográficas das espécies de arbóreas, coletor do material e realizador do isolamento. No entanto, ainda é carente de informações sobre a correta identificação, tanto para o depósito completo quanto para a disponibilização de recurso genético para a indústria. Sendo assim, foram utilizados um total de 14 isolados de leveduras para cultivo em meio YPD (peptona de caseína 0.5%, extrato de levedura 0.5%, glicose 1.5%, ágar 1.5%) sólido a 30°C por 24h. A partir deste período foram feitos registros fotográficos e colorações diferenciais para observação em microscópio óptico dos isolados. Os 14 isolados tiveram o DNA total extraído utilizando brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB). A qualidade do DNA extraída foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 0,8% e por espectrofotometria. A amplificação do DNA foi realizada utilizando os primers LS266 (GCATTCCCAACAACACTCGACTC) e V9G (TTACGTCCCTGCCCTTTGTA). Após amplificação, o DNA foi purificado utilizando polietilenoglicol e posteriormente enviado para sequenciamento. A análise das sequências foi realizada no programa Bioedit e após ajustadas foram comparadas com o banco de dados do NCBI. Em 90% dos isolados foi possível a identificação à nível de espécie, com predomínio da espécie *Saccharomyces cerevisiae*. Como conclusão temos o depósito com todas as informações necessárias para o uso da biodiversidade microbiana por empresas que utilizam leveduras em seus diferentes processos industriais, uma vez que estas sobrevivem em substratos celulósicos e podem contribuir com diversos processos de biotransformação, inclusive com possibilidade de produção de etanol de segunda geração.

Palavras-chave: identificação molecular, arbóreas nativas, recursos genéticos microbianos.

Agradecimentos: À Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelo apoio no desenvolvimento do projeto e a Fundação Araucária pela concessão de bolsa.