



CARACTERIZAÇÃO DE CEPAS DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* VIA MARCADORES MOLECULARES DE DNA

Mariana Yoshimoto¹; Léia Carolina Lucio²

RESUMO: O etanol tem sido considerado um combustível alternativo para diminuir problemas ambientais e energéticos no mundo, em razão da escassez e alta dos preços dos combustíveis fósseis, e da poluição causada por estes. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de etanol e baseia sua atividade produtiva na cultura da cana-de-açúcar, onde por ação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, ocorre transformação de açúcares em álcool e dióxido de carbono. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta alta eficiência fermentativa, crescimento rápido, habilidade em produzir e consumir etanol, tolera altas concentrações de etanol e baixos níveis de oxigênio e também grandes variações de temperatura, possui atividade celular em ambientes ácidos, entre outros fatores, que são fundamentais para sua utilização na indústria. Desta forma, pode-se dizer que a *S. cerevisiae* é a principal levedura e com grande sucesso envolvida nos processos fermentativos. No entanto, uma vez na indústria, a levedura entra em contato com populações de bactérias e leveduras selvagens, que competem pelo substrato e produzem metabólitos que podem causar a diminuição da produtividade, além de diversas outras características indesejáveis, comprometendo, assim, o desempenho industrial. Desta forma, faz-se necessário o uso de metodologias que proporcionem o controle microbiológico adequado das cepas de leveduras e que permitam obter um diagnóstico rápido a cerca das populações de leveduras envolvidas durante todo o processo. Dentre as técnicas utilizadas para fazer o controle de contaminações nos vários processos fermentativos, destacam-se aquelas que envolvam análises moleculares do DNA. Estas geram marcadores que permitem a diferenciação, em curto período de tempo e com grande capacidade discriminativa, das cepas quando comparadas as técnicas que se baseiam apenas nas avaliações fenotípicas. Dentre estas destacam-se as que geram marcadores moleculares RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) obtidos via PCR (Polymerase Chain Reaction). Esta metodologia possui a vantagem de ser simples e rápida, necessitar de pouca quantidade de DNA e revelar um número alto de marcadores polimórficos e as regiões amplificadas são escolhidas randomicamente, não exigindo iniciadores “específicos”, o que facilita a sua implementação e uso para as mais diferentes espécies, incluindo às leveduras. Desta forma, o presente trabalho objetiva caracterizar cepas de *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas na produção de etanol em usinas do noroeste do Estado do Paraná, através de marcadores moleculares de DNA obtidos via RAPD-PCR. O DNA genômico das cepas será extraído segundo o protocolo de Sambrook, Fritsch e Maniatis (com adaptações). A quantificação será feita em gel de agarose a 1% via eletroforese e a análise de polimorfismo de DNA amplificado ao acaso será por RAPD. Os *primers* utilizados serão OPAX-17 e OBP-11 e a amplificação será realizada em termociclador. Os fragmentos amplificados serão separados em gel de agarose 1,4%, corado com brometo de etídio e imerso em tampão TBE. Como marcador de peso molecular será usado DNA de lambda clivado com enzima de restrição HindIII e a visualização do gel será feita por meio do transluminador, onde as fotos serão registradas com o auxílio de câmera digital.

PALAVRAS-CHAVE: Etanol; Fermentação Alcoólica; Levedura; Polimorfismo Molecular; RAPD.

¹ Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. Programa de Iniciação Científica do Cesumar (PICC). mariana.yoshimoto@gmail.com

² Orientadora e docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – Cesumar, Maringá – Paraná. leia.lucio@cesumar.br