

GREICE KELLE VIEGAS SARAIVA

DIVERSIDADE GENÉTICA DE LEVEDURAS ISOLADAS DA
INDÚSTRIA DE LEITE DA ZONA DA MATA MINEIRA POR
RAPD E PCR-RFLP DA REGIÃO ITS DO rDNA

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
Exigências do Programa de Pós-
Graduação em Microbiologia
Agrícola, para obtenção do título
de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2002

RESUMO

SARAIVA, Greice Kelle Viegas, M.S., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2002. **Diversidade Genética de Leveduras Isoladas Indústria de Leite da Zona da Mata Mineira por RAPD e PCR-RFLP da região ITS do rDNA.** Orientadora: Flávia Maria Passos Lopes. Conselheiras: Elza Fernandes Araújo e Marisa Vieira de Queiroz

A diversidade genética de vinte e sete isolados de leveduras coletadas em laticínios, utilizando como referências dos gêneros *Kluyveromyces* e *Debaryomyces*, foi averiguada por meio de RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA). A amplificação resultou em um total de oitenta e oito fragmentos polimórfico de DNA, utilizando treze oligonucleotídeos decâmeros aleatórios. As distâncias genéticas variaram de 6,5 a 71%, gerando na análise gráfica, cinco grupos geneticamente divergentes. Nas avaliações da região ITS do rDNA foi observado um polimorfismo de tamanho que variou de 380 a 710 pb. A análise de agrupamento utilizando valores da distância genética resultou na formação de oito grupos, sugerindo a existência de pelo menos oito espécies de leveduras. Na análise por PCR-RFLP da região ITS do rDNA, os produtos das amplificações foram hidrolisados com diferentes endonucleases de restrição evidenciando o padrão polimórfico, e os valores das distâncias genéticas foram utilizados para o agrupamento, resultando na formação de quinze grupos. Os agrupamentos obtidos com

os marcadores moleculares possibilitaram a diferenciação genética dos isolados. Os resultados sugerem que quatro dos vinte e sete isolados pertencem à espécie *Kluyveromyces lactis*.

ABSTRACT

SARAIVA, Greice Kelle Viegas, M.S., Universidade Federal de Viçosa, November, 2002 **Diversity of yeasts isolated from dairies in the dairy “Zona da Mata Mineira” by RAPD and PCR-RFLP.** Advisor: Flávia Maria Passos Lopes. Committee members: Elza Fernandes Araújo and Marisa Vieira de Queiroz

The genetic diversity of twenty-seven yeasts collected at dairies, was evaluated by RAPD using *Kluyveromyces* and *Debaryomyces* reference genera. Amplification using thirteen random oligonucleotides resulted in eighty-eight DNA polymorphic fragments. The Genetic distances varied from 6,5 to 71%, and generated a Dendrogram with five different genetic groups. The amplification of the ITS 18SrDNA region from the yeast resulted in DNA fragments with length polymorphism (380 and 710 bp). The clustering analysis using the genetic distance value produced eight groups, reflecting at least eight yeasts species. The amplification products of the rDNA ITS region using PCR-RFLP analyses were cleaved with different restriction endonucleases showing polymorphic patterns. The values of the genetic distances were used for the clustering resulted in fifteen groups. The clusters obtained using the molecular markers showed genetic difference between you isolates. The results suggest that four of the twenty-seven isolates can be identified as the yeast *Kluyveromyces lactis*.