



**Benedito Rodrigues da Silva Neto**  
**(Organizador)**

# **Inventário de Recursos Genéticos**



**Atena**  
Editora  
Ano 2019

**Benedito Rodrigues da Silva Neto**  
**(Organizador)**

# **Inventário de Recursos Genéticos**

**Atena Editora**  
**2019**

2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Executiva: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### **Conselho Editorial**

#### **Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

#### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Prof.ª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
Prof. Msc. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista  
Prof.ª Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof.ª Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
162	<p>Inventário de recursos genéticos [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-486-3 DOI 10.22533/at.ed.863191807</p> <p>1. Evolução humana. 2. Genética da população humana. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.</p> <p style="text-align: right;">CDD 575.1</p>
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

O termo “genética” nos últimos anos ganhou uma conotação cada vez mais importante e acessível à população. Podemos dizer que a genética saiu da rotina laboratorial e da sala de aula para adentrar as casas da população, seja por informação ou na forma de produto. Isso porque a revolução tecnológica contribuiu grandemente com o avanço no campo da pesquisa básica e aplicada à genética, e as descobertas propiciadas por tecnologias mais apuradas possibilitaram um entendimento mais amplo desta importante área.

A genética como sabemos possui um campo vasto de aplicabilidades que podem colaborar e cooperar grandemente com os avanços científicos e tecnológicos. O acelerado mundo das descobertas científicas caminha a passos largos e rápidos no sentido de transformar a pesquisa básica em aplicada, portanto é relevante destacar que investimentos e esforços nessa área contribuem grandemente com o desenvolvimento de uma nação.

O livro “Inventários e Recursos Genéticos” aqui apresentado, aborda assuntos relativos aos avanços e dados científicos publicados de cunho voltado para a utilização dos recursos genéticos disponíveis na área ambiental, microbiológica dentre outras diversas que cientistas tem gastado esforços para compreender. Assim, são diversas as possibilidades de aplicações genéticas em diversos campos, neste livro tentaremos otimizar os conceitos dos recursos genéticos abordando plantas medicinais, segurança alimentar, sanidade animal, microrganismos patogênicos, identificação molecular, caracterização morfoagronômica, Banco de DNA, metabólitos secundários, melhoramento genético, análise multivariada, bioinformática, expressão de genes, viabilidade polínica, Germoplasma, recursos genéticos, cultivares, Qualidade de sementes; seleção de plantas; melhoramento genético da mamoneira, simulações em Easypop, fluxo gênico, fragmentação florestal, análise de diversidade genética de Nei, Coeficientes de endogamia, demonstrando ferramentas genéticas e moleculares usadas em diferentes estudos que estão diretamente relacionados ao dia-a-dia da população.

Desejamos que este material possa somar de maneira significativa aos novos conceitos aplicados à genética. Parabenizamos cada autor pela teoria bem fundamentada aliada à resultados promissores, e principalmente à Atena Editora por permitir que o conhecimento seja difundido e disponibilizado para que as novas gerações se interessem cada vez mais pelo ensino e pesquisa em genética.

Benedito Rodrigues da Silva Neto

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA EM GENÓTIPOS DE TRIGO: PRESENÇA DE MICRONÚCLEOS E VIABILIDADE POLÍNICA	
Sandra Patussi Brammer Patrícia Frizon Elizandra Andréia Urio	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8631918071</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>13</b>
CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DA PARTE AÉREA DE ACESSOS DE <i>Psychotria ipecacuanha</i> (IPECA)	
Raphael Lobato Prado Neves Osmar Alves Lameira Ana Paula Ribeiro Medeiros Helaine Cristine Gonçalves Pires Mariana Gomes de Oliveira Carolina Mesquita Germano Fábio Miranda Leão	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8631918072</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>25</b>
CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE <i>Staphylococcus aureus</i> E <i>Escherichia coli</i> ISOLADOS EM MEIOS CROMOGÊNICOS ORIUNDOS DE LEITE DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA	
Clarissa Varajão Cardoso Eunice Ventura Barbosa Alcir das Graças Paes Ribeiro Rossiane de Moura Souza Helena Magalhães Helena Carla Castro Maíra Halfen Teixeira Liberal	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8631918073</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>38</b>
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE MICRORGANISMOS ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS	
Mariely Cristine dos Santos Juliana Vitória Messias Bittencourt Mariana Machado Fidelis Nascimento Luciano Medina-Macedo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8631918074</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>47</b>
CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DE UMA POPULAÇÃO NATURAL DE <i>Physalis angulata</i> L. EM TERESINA-PI VISANDO A SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES	
Hortência Kardec da Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8631918075</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 53**

COLEÇÕES DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS NA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

Thiago Serravalle de Sá  
Carolina Santos Pinho  
Maíra Miele Oliveira Rodrigues de Souza  
Suzelir Souza Nascimento  
Adrielle Matos de Jesus  
Izabela Santos Dias de Jesus  
Jozimare dos Santos Pereira  
Maria Luiza Silveira de Carvalho  
Alessandra Selbach Schnadelbach  
José Geraldo de Aquino Assis

**DOI 10.22533/at.ed.8631918076**

**CAPÍTULO 7 ..... 66**

COMPARAÇÃO DE TEMPO E CUSTOS DE PROTOCOLOS DE EXTRAÇÃO DE DNA DE PLANTAS DO CERRADO: SUBSÍDIO PARA CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE DO BIOMA

Diego Cerveira de Souza  
Terezinha Aparecida Teixeira  
Carla Ferreira de Lima  
Vanessa Aparecida Caetano Alves

**DOI 10.22533/at.ed.8631918077**

**CAPÍTULO 8 ..... 76**

CORRELAÇÕES GENÉTICAS ENTRE CARACTERES VEGETATIVOS E REPRODUTIVOS DE PIMENTEIRAS (*Capsicum* spp.)

Joanderson Marques Silva  
Allana Tereza Mesquita de Lima  
Alaide Silva de castro  
Ivanayra da Silva Mendes  
Larissa Pinheiro Alves  
Mayara Cardoso Araújo Lima  
Ramile Vieira de Oliveira  
Raquel Sobral da Silva  
Jardel Oliveira Santos

**DOI 10.22533/at.ed.8631918078**

**CAPÍTULO 9 ..... 84**

DESEMPENHO AGRONÔMICO E SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE MAMONEIRA PARA ALTA PRODUTIVIDADE

Sebastião Soares de Oliveira Neto  
Odila Friss Ebertz  
Maria Márcia Pereira Sartori  
Maurício Dutra Zanotto

**DOI 10.22533/at.ed.8631918079**

**CAPÍTULO 10 ..... 93**

DIVERSIDADE FENOTÍPICA DE SUBAMOSTRAS DE PIMENTEIRAS (*Capsicum* spp.)  
CONSERVADAS EX SITU NO MARANHÃO

Joanderson Marques Silva  
Ivanayra da Silva Mendes  
Gabriela Nunes da Piedade  
Raquel Sobral da Silva  
Alaide Silva de Castro  
Allana Tereza Mesquita de Lima  
Larissa Pinheiro Alves  
Mayara Cardoso Araújo Lima  
Ramile Vieira de Oliveira  
Jardel Oliveira Santos

**DOI 10.22533/at.ed.86319180710**

**CAPÍTULO 11 ..... 106**

DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DO BANCO DE GERMOPLASMA DE MACIEIRA DA  
EPAGRI

Filipe Schmidt Schuh  
Pedro Soares Vidigal Filho  
Marcus Vinicius Kvistchal  
Gentil Carneiro Gabardo  
Danielle Caroline Manenti  
Giseli Valentini

**DOI 10.22533/at.ed.86319180711**

**CAPÍTULO 12 ..... 118**

DOF: FATOR DE TRANSCRIÇÃO IMPORTANTE EM PLANTAS DE INTERESSE AGRONÔMICO

Tiago Benedito dos Santos  
Sílvia Graciele Hulse de Souza

**DOI 10.22533/at.ed.86319180712**

**CAPÍTULO 13 ..... 130**

FENOLOGIA REPRODUTIVA DE *Quassia amara* L. (SIMAROUBACEAE)

Ana Paula Ribeiro Medeiros  
Osmar Alves Lameira  
Raphael Lobato Prado Neves  
Carolina Mesquita Germano  
Helaine Cristine Gonçalves Pires  
Fábio Miranda Leão  
Mariana Gomes de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.86319180713**

**CAPÍTULO 14 ..... 138**

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES DO GÊNERO RHINELLA (BUFONIDAE) DE  
OCORRÊNCIA NOS BIOMAS DO MEIO NORTE DO BRASIL

Sulamita Pereira Guimarães  
Aryel Moraes de Queiroz  
Elmary da Costa Fraga  
Maria Claudene Barros

**DOI 10.22533/at.ed.86319180714**

**CAPÍTULO 15 ..... 148**

INCIDÊNCIA DE ESPINHA BÍFIDA NO ESTADO DO MARANHÃO, PRÉ- E PÓS-FORTIFICAÇÃO DE FARINHAS COM ÁCIDO FÓLICO

Rômulo Cesar Rezzo Pires  
Vanalda Costa Silva  
Beatriz Fernanda Santos da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.86319180715**

**CAPÍTULO 16 ..... 155**

MARCADORES MOLECULARES CONFIRMAM A OCORRÊNCIA DA OSTRA *Crassostrea rhizophorae* (GUILDING, 1828) NO LITORAL MARANHENSE

Rodolf Gabriel Prazeres Silva Lopes  
Ícaro Gomes Antônio  
Lígia Tchaika  
Maria Claudene Barros  
Elmary da Costa Fraga

**DOI 10.22533/at.ed.86319180716**

**CAPÍTULO 17 ..... 167**

PADRÕES PARA O CULTIVO DE HORTALIÇAS EM ESPAÇOS RESIDENCIAIS NO INTERIOR DO MARANHÃO

Alaide Silva de castro  
Larissa Pinheiro Alves  
Mayara Cardoso Araújo Lima  
Ramile Vieira de Oliveira  
Allana Tereza Mesquita de Lima  
Ivanayra da Silva Mendes  
Gabriela Nunes da Piedade  
Joanderson Marques Silva  
Raquel Sobral da Silva  
Jardel Oliveira Santos

**DOI 10.22533/at.ed.86319180717**

**CAPÍTULO 18 ..... 174**

RECEPTIVIDADE ESTIGMÁTICA, VIABILIDADE E GERMINAÇÃO *IN VITRO* DO PÓLEN DA ESPÉCIE *Delonix regia* (Bojerex Hook.) Raf. NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA – UEFS

Hortência Kardec da Silva  
Jéssica Barros Andrade  
Joseane Inácio da Silva Moraes  
Katiane Oliveira Porto

**DOI 10.22533/at.ed.86319180718**

**CAPÍTULO 19 ..... 185**

RECURSOS GENÉTICOS DE VIDEIRA NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Patrícia Coelho de Souza Leão

**DOI 10.22533/at.ed.86319180719**

<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>194</b>
SELEÇÃO DE HÍBRIDOS DE MAMONEIRA PARA ALTA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES	
Sebastião Soares de Oliveira Neto	
Odila Friss Ebertz	
Larissa Chamma	
Maria Márcia Pereira Sartori	
Maurício Dutra Zanotto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.86319180720</b>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>204</b>
USO DE DADOS DE MARCADORES MOLECULARES EM SIMULAÇÕES PARA A CONSERVAÇÃO DE FRAGMENTOS DE LUEHEA DIVARICATA MART. & ZUCC. NO BIOMA PAMPA	
Caetano Miguel Lemos Serrote	
Lia Rejane Silveira Reiniger	
Valdir Marcos Stefenon	
Aline Ritter Curti	
Leonardo Severo Da Costa	
Aline Ferreira Paim	
<b>DOI 10.22533/at.ed.86319180721</b>	
<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>226</b>
USO DE DADOS GENÔMICOS COMO INDICADORES DE IDENTIDADE E QUALIDADE NA GESTÃO DE COLEÇÕES MICROBIOLÓGICAS	
Luciana de Almeida	
Mariely Cristine dos Santos	
Mariana Machado Fidelis Nascimento	
Luciano Medina-Macedo	
Juliana Vitória Messias Bittencourt	
<b>DOI 10.22533/at.ed.86319180722</b>	
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>233</b>
VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS ESPONTÂNEOS DE MAMONEIRA COLETADOS EM DIFERENTES REGIÕES BRASILEIRAS	
Sebastião Soares de Oliveira Neto	
Odila Friss Ebertz	
Maria Márcia Pereira Sartori	
Maurício Dutra Zanotto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.86319180723</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>244</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO</b> .....	<b>245</b>

## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE MICRORGANISMOS ASSOCIADOS À PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS

### **Mariely Cristine dos Santos**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Programa de Pós-graduação em  
Ponta Grossa – Paraná

### **Juliana Vitória Messias Bittencourt**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Programa de Pós-graduação em  
Ponta Grossa – Paraná

### **Mariana Machado Fidelis Nascimento**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Programa de Pós-graduação em  
Ponta Grossa – Paraná

### **Luciano Medina-Macedo**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Programa de Pós-graduação em  
Ponta Grossa – Paraná

**RESUMO:** Nos últimos anos, a indústria alimentícia vem aumentando a busca por novas fontes de produtos naturais. O metabolismo microbiano pode produzir uma ampla gama de compostos capazes de serem utilizados na indústria alimentícia, incentivando o desenvolvimento de vários processos biotecnológicos para a obtenção de novos aditivos alimentares. Nesse sentido, microrganismos isolados de frutos podem produzir compostos voláteis que possuem um aroma característico de frutas. Assim, este trabalho teve como objetivo a identificação

molecular de 22 leveduras responsáveis pela produção de compostos aromáticos constituintes do aroma marcante da maçã. As leveduras foram selecionadas dentre as linhagens depositadas na Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico (CMIB) da UTFPR Ponta Grossa, as quais tiveram seu DNA extraído e amplificado na região ITS0 produto da amplificação foi sequenciado e as sequências foram tratadas e analisadas com software específico e posteriormente comparadas com as sequências depositadas no banco de dados de nucleotídeos do NCBI. Árvores filogenéticas foram construídas para confirmar a identidade molecular e a relação entre as espécies encontradas, utilizando-se do método de máxima verossimilhança com dois diferentes modelos evolutivos. Das 22 leveduras, onze linhagens foram identificadas como *Clavispora lusitaniae*, oito como *Rhodotorula mucilaginosa* e três como *Lodderomyces elongisporus*. As três espécies encontradas neste estudo foram relatadas na literatura causando infecções em humanos. No entanto, as espécies também foram isoladas de outras fontes, incluindo alimentos, o que pode fornecer oportunidades para o estudo de aplicações biotecnológicas dessas leveduras, como a produção de bioaromas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bioaromas. Identificação Molecular. Leveduras não-*Saccharomyces*.

## MOLECULAR IDENTIFICATION OF MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH THE VOLATILE COMPOUNDS PRODUCTION

**ABSTRACT:** In recent years, the food industry has been increasing the search for new sources of natural products. The microbial metabolism can produce a wide range of compounds capable of being used in the food industry, encouraging the development of various biotechnological processes to obtain new food additives. Regarding this, isolated microorganisms from fruits can produce volatile compounds that have a characteristic fruit aroma. Thus, the objective of this work was the molecular identification of 22 yeasts responsible for the production of aromatic compounds constituting the remarkable aroma of the apple. The yeasts were selected among the strains deposited in the Microbiological Collection of Biotechnological Interest (CMIB) of UTFPR Ponta Grossa, which had their DNA extracted and the ITS region amplified. The amplification product was sequenced, and the sequences were treated and analyzed with specific software and then compared to the sequences deposited in the NCBI nucleotide database. Phylogenetic trees were constructed to confirm the molecular identity and the relationship between the species found, using the maximum likelihood method with two different evolutionary models. Among the 22 yeasts, eleven strains were identified as *Clavispora lusitaniae*, eight as *Rhodotorula mucilaginosa* and three as *Lodderomyces elongisporus*. The three species found in this study have been reported in the literature causing infections in humans. However, the species also have been isolated from other sources, including food, which may provide opportunities for the study of biotechnological applications of these yeasts, such as for bioaroma production

**KEYWORDS:** Bioaromas. Molecular identification. Non-*Saccharomyces* yeasts.

### 1 | INTRODUÇÃO

O progresso científico no ramo da biotecnologia incentivou o desenvolvimento de inúmeras técnicas para obtenção de produtos e processos que envolvem a esfera biológica e tecnológica (ZORZAL, 2017). Esses processos podem ser incorporados em diversas áreas, como, por exemplo, na indústria alimentícia.

Na indústria de alimentos, as características sensoriais são altamente valorizadas na compra de algum produto pelo consumidor. Uma das características mais observadas é o aroma dos produtos, sejam estes naturais ou artificiais. Os mais variados compostos químicos aromáticos são responsáveis pelo aroma e podem ser naturais ou adquiridos durante o processamento, para incrementar as características desejadas para determinado alimento ou bebida (TEIXEIRA, 2009). Contudo, esses aromas também podem ser originários do metabolismo microbiano.

Durante décadas, muitos estudos com microrganismos capazes de produzir aroma têm sido realizados, destacando principalmente fungos e leveduras com essa capacidade. Leveduras produtoras de bioaromas já são isoladas há mais de um século (OMELIANSKI, 1923).

Microrganismos produtores de determinados bioaromas podem ser isolados de frutos, sendo responsáveis por produzir o aroma característico do fruto em que foram encontrados. Os bioaromas são produzidos por meio da fermentação de nutrientes, como açúcares e aminoácidos, pelos microrganismos dando origem a compostos voláteis com características aromáticas específicas (LONGO & SANROMÁN, 2006).

A maçã é um fruto que recebe alto destaque em escala mundial. Estima-se que o seu consumo médio per capita anual seja de aproximadamente 10 quilogramas, sendo produzidas 77 milhões de toneladas do fruto (LAZZAROTTO, 2018), das quais 1,4% são do Brasil. Atualmente o Brasil se encontra entre os dez maiores produtores de maçã (USDA, 2018). Entretanto, a ampla produção de maçã acaba gerando muitos descartes na medida em que aumentam as exigências por características sensoriais melhores pelos consumidores. Como forma de reaproveitar os frutos que seriam rejeitados, características sensoriais da maçã são estudadas para idealizar a melhor forma de incorporação dessa matéria em novos produtos, principalmente bebidas. Desta forma, a maçã se tornou um fruto amplamente empregado para a produção de sidras, sendo bastante estudado quanto a sua composição aromática (XIABO; JIEWEN, 2008).

Portanto, este trabalho se propôs a identificar por meio de taxonomia molecular 22 leveduras produtoras de aromas extraídas da casca de maçã depositadas na Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico – CMIB da UTFPR Ponta Grossa.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Linhagens selecionadas para o estudo

Para o desenvolvimento deste estudo, foram selecionadas 22 linhagens de leveduras produtoras de aromas que estão depositadas na Coleção Microbiológica de Interesse Biotecnológico (CMIB). Tais linhagens foram isoladas inicialmente de frutos de maçã por Pietrowski et al., 2018 e foram selecionadas para este estudo a partir da CMIB, devido às suas habilidades para produzir compostos voláteis com aroma.

### 2.2 Identificação Molecular

Para a extração de DNA genômico das linhagens de leveduras produtoras de aromas foi utilizado o protocolo proposto por Vicente et al. 2008. As linhagens foram cultivadas em Ágar Sabouraud e incubadas a 28°C por 48h. Após esse período aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> das culturas foi transferido para um tubo de 1,5 mL contendo 300 µL de CTAB 2% e 80mg de uma mistura de sílica em pó (sílica gel/celite 2:1). As células foram trituradas manualmente utilizando pistilos de plásticos esterilizados por aproximadamente 5 minutos. Posteriormente, 200 µl de tampão CTAB foram adicionados, a mistura foi incubada a 65°C por 10 min. Após incubação, adicionou-se 500µL de CIA (24:1). Os tubos foram centrifugados durante 7 min a 20.500 g, e o

sobrenadante foi coletado em novos tubos de 1,5 e acrescentado 800  $\mu\text{L}$  de etanol a 96% gelado para a precipitação do DNA. Após a etapa de precipitação do DNA, foi procedida a lavagem do DNA extraído com álcool 70% gelado e posteriormente os DNAs extraídos foram secos à temperatura ambiente e na sequência adicionado 100  $\mu\text{L}$  de água.

A amplificação e sequenciamento da região ITS do rDNA foi realizada de acordo com White et al.1990 utilizando oligonucleotídeos iniciadores ITS1 e ITS4 para as duas etapas. As reações de amplificação (PCR) foram preparadas num volume de 25  $\mu\text{L}$  contendo 1  $\mu\text{L}$  de DNA extraído (30 ng), 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão 10X de PCR, 1  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (2 mM), 2  $\mu\text{L}$  da mistura de dNTP (2,5 mM), 1  $\mu\text{L}$  de cada iniciador (10 pmol), 0,2  $\mu\text{L}$  de polimerase Taq (Invitrogen, Brasil) (5 U.mL<sup>-1</sup>) e água ultrapura esterelizada para completar o volume final. A PCR foi realizada em um termociclador MaxyGene II (Axygene, Tewksbury, EUA). As amplificações foram realizadas de acordo com a seguinte programação: 95°C por 5 min, seguido por 30 ciclos consistindo de 94°C por 45 s, 52°C por 45 s, e 72°C por 2 min e pós-alongamento a 72°C por 7 min. Os produtos de PCR foram visualizados por eletroforese num gel de agarose a 1% (p/v) e enviados para sequenciamento (Myleus Biotechnology, [www.myleus.com](http://www.myleus.com)). O sequenciamento foi feito com um sequenciador automático ABI3730 (Applied Biosystems).

### 2.3 Alinhamento e análises filogenéticas

As sequências foram ajustadas usando o pacote SEQMAN (DNASar, Madison, E.U.A.). As comparações da região ITS foram realizadas usando o banco de dados do Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia - NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) usando a ferramenta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Em seguida as sequências foram alinhadas usando o programa MAFFT (<http://www.ebiac.uk/Tools/mafft>) e inspecionadas visualmente pelo programa MEGA versão 6 (TAMURA et al, 2013).

As relações filogenéticas e a obtenção das árvores foram estimadas pelo método de máxima verossimilhança usando dois diferentes modelos evolutivos também através do programa MEGA versão 6 (TAMURA et al, 2013).

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi avaliado um total de 22 linhagens de leveduras produtoras de aromas. Entre as espécies identificadas, onze linhagens foram identificadas como *Clavispora lusitaniae*, oito linhagens como *Rhodotorula mucilaginosa* e três como *Lodderomyces elongisporus*, as quais são pertencentes aos filos Basidiomycota e Ascomycota.

	Código da linhagem	Espécies
1.	CMRP3203	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
2.	CMRP3170	<i>Clavispora lusitaniae</i>
3.	CMRP3197	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
4.	CMRP3192	<i>Lodderomyces elongisporus</i>
5.	CMRP3171	<i>Clavispora lusitaniae</i>
6.	CMRP3205	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
7.	CMRP3204	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
8.	CMRP3169	<i>Clavispora lusitaniae</i>
9.	CMRP3175	<i>Clavispora lusitaniae</i>
10.	CMRP3172	<i>Clavispora lusitaniae</i>
11.	CMRP3189	<i>Clavispora lusitaniae</i>
12.	CMRP3160	<i>Clavispora lusitaniae</i>
13.	CMRP3163	<i>Clavispora lusitaniae</i>
14.	CMRP3202	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
15.	CMRP3180	<i>Clavispora lusitaniae</i>
16.	CMRP3165	<i>Clavispora lusitaniae</i>
17.	CMRP3177	<i>Clavispora lusitaniae</i>
18.	CMRP3167	<i>Clavispora lusitaniae</i>
19.	CMRP3195	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
20.	CMRP3184	<i>Lodderomyces elongisporus</i>
21.	CMRP3198	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
22.	CMRP3181	<i>Lodderomyces elongisporus</i>

Tabela 1. Código e identificação das linhagens

Fonte: Autoria Própria (2019)

Todas as linhagens foram identificadas com 100% de compatibilidade com as sequências depositadas no banco de dados de nucleotídeos do NCBI.

A árvore filogenética apresentada a seguir (figura 1) confirma a identidade molecular da espécie *Rhodotorula mucilaginosa*.

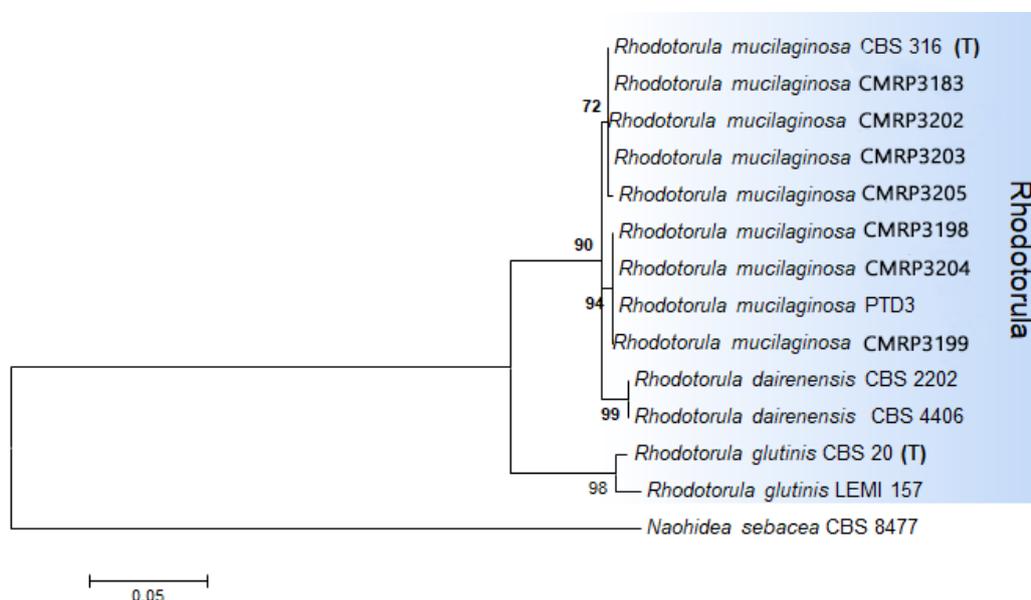


Figura 1. Árvore filogenética construída com máxima verossimilhança, com 500 bootstraps de repetições, o melhor modelo evolutivo foi Tamura-Nei com sítios invariantes e deleção parcial. A espécie *Naohidea sebacea* (CBS 8477) foi usada como um grupo externo.

As leveduras do gênero *Rhodotorula* são pigmentadas, pertencentes a família Sporidiobolaceae (FELL et al., 2000). A maior parte das espécies de *Rhodotorula* apresentam colônias de coloração rosa a coral, podendo também variar de laranja para vermelho, caso sejam cultivadas em Ágar Sabouraud com a presença de pigmentos carotenoides (LARONE, 2002). Das 37 espécies pertencentes ao gênero, 3 já foram relacionadas com infecções em humanos, sendo eles: *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula minuta* e *Rhodotorula glutinis* (BISWAS et al., 2001).

Mesmo relacionada com casos de infecções em humanos, a *R. mucilaginosa* é reconhecida por sua excelente capacidade de produção de aromas, sendo testada em fermentações de bebidas alcoólicas (MINGORANCE-CAZORLA et al., 2003). Assim como as linhagens utilizadas no presente trabalho, outros autores (GHOLAMNEJAD; ETEBARIAN; SAHEBANI, 2010) também realizaram o isolamento desta espécie de maçãs saudáveis.

Para as espécies, *Clavispora lusitanae* e *Lodderomyces elongisporus*, identificadas neste estudo também construiu-se uma árvore filogenética (figura 2), percebendo-se a proximidade entre as espécies.

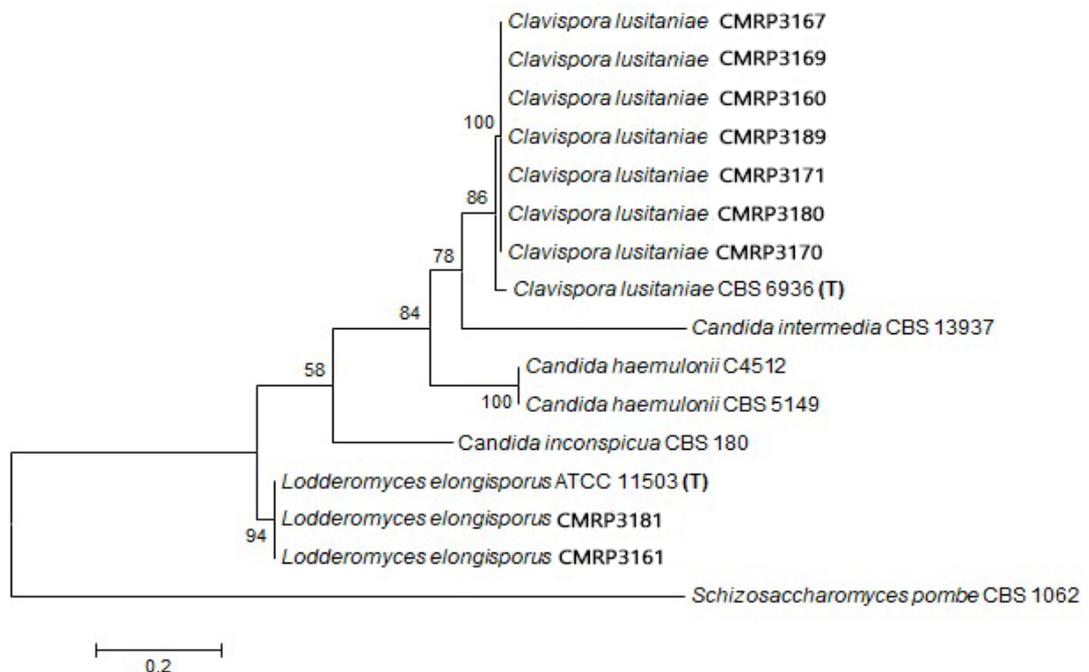


Figura 2 - Árvore filogenética construída com máxima verossimilhança, com 500 bootstraps de repetições, o melhor modelo evolutivo foi Tamura-Nei com variância gama e deleção parcial. A espécie *Schizosaccharomyces pombe* foi usada como um grupo externo.

A espécie *Clavispora lusitanae* foi isolada pela primeira vez do trato digestório de animais de sangue quente e desde então tem sido isolada de diversos outros lugares como farinha de milho, casca de frutas cítricas, sucos de frutas e leite de

vacas com mastite (ELLIS; KIDD, 2017]). *Clavispora lusitaniae* é a fase anamórfica de *Candida lusitaniae*, sendo responsável por colonizar e infectar humanos, podendo causar candidíase, incluindo septicemia e pielonefrite (HADFIELD, 1987). E sendo com frequência isolada em amostras clínicas, entretanto não é considerada como um verdadeiro patógeno humano (HURLEY et al., 1987). Tem sido estudada quanto a sua capacidade de produção de aromas em queijos (MONTET; RAY, 2016) e na produção de aromas cítricos, como as leveduras originárias de Israel utilizadas por Ravasio et al. (2018) em seu estudo.

A outra espécie identificada, *Lodderomyces elongisporus* já foi associada com infecções sanguíneas, onde, devido a sua grande semelhança morfológica, acreditava-se que se tratava na verdade de *Candida parapsilosis* (LOCKHART et al., 2007). Sendo assim, a identificação molecular se torna o caminho mais “simples” para a correta identificação deste organismo. Além de ter sido isoladas de maçãs, essa linhagem também já foi isolada de sucos concentrados de frutas, sendo um forte indício da sua capacidade de produção de aromas frutais, como o esperado para este trabalho (DEAK, BEUCHAT, 1993).

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste capítulo apresentamos como a identificação molecular de microrganismos pode ser uma ferramenta muito importante para a correta identificação de microrganismos, principalmente devido ao fato de que existem casos, como os citados neste capítulo, onde duas espécies só podem ser diferenciadas por meio de diagnóstico molecular, visto que são extremamente semelhantes fenotipicamente.

É evidente que muitas vezes para que a correta identificação dos microrganismos seja realizada é necessário combinar diferentes métodos como, por exemplo, identificação molecular com os aspectos micro e macromorfológicos das colônias dos microrganismos.

Neste estudo, todas as espécies identificadas envolvem algum tipo de infecção em humanos, mas também já foram isoladas de outras fontes ambientes, inclusive alimentos, e mesmo assim vem sendo estudadas quanto à sua capacidade de produção de bioaromas.

Uma das classes de compostos aromáticos constituintes do aroma de maçãs é a classe dos terpenos. Com grande aplicabilidade em diferentes indústrias, o terpeno vem sendo buscado em metabólitos de microrganismos como as leveduras não-*Saccharomyces*.

As leveduras não-*Saccharomyces* apresentam baixa tolerância ao álcool, não resistindo até o final da fermentação em bebidas, por exemplo. Todavia, o descobrimento de rotas terpênicas nessas leveduras pode caracterizar uma nova possibilidade de incorporação delas em processos industriais com diferentes finalidades. A continuação

da presente pesquisa segue esta linha de trabalho, onde estão sendo selecionadas entre estas leveduras identificadas quais delas são capazes de consumir e biotransformar compostos terpênicos.

## REFERÊNCIAS

- BISWAS et al. **Molecular phylogenetics of the genus *Rhodotorula* and related basidiomycetous yeasts inferred from the mitochondrial cytochrome b gene.** Int J Syst Evol Microbiol. V. 51, n.3, p. 1191-1199, 2001.
- DEAK, T. BEUCHAT, L. R. **Yeasts Associated with Fruit Juice Concentrates.** Journal of Food Protection, v. 56, n. 9, p. 777-782, 1993
- ELLIS, D.; KIDD, S. ***Clavispora lusitaniae*.** Disponível em: <<https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/yeasts/clavispora/>> Acesso em: 12 dez. 2019.
- FELL, J. W. **Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis.** Int J Syst Evol Microbiol. v. 50 n.3, p. 1351-71, 2000.
- GHOLAMNEJAD, J.; ETEBARIAN, H. R.; SAHEBANI, N. **Biological control of apple blue mold with *Candida membranifaciens* and *Rhodotorula mucilaginosa*.** Afr. J. Food. Sci. v. 4, p. 001- 007. 2010.
- HADFIELD, et al. **Mycoses caused by *Candida lusitaniae*.** Rev. Infect. Dis. v. 9, p. 1006-1012, 1987.
- HURLEY, R.J.; DE LOUVOIS, J; MULHALL, A. 1987. **Yeasts as human and animal pathogens.** In **The Yeasts**, 2nd edn, AH Rose, JS Harrison (eds). London: Academic Press; 212– 239.
- LARONE, D. H. **Medically important fungi.** 4<sup>a</sup> ed. Washington, D.C.: ASM Press; 2002.
- LAZZAROTTO, J. J. **Indicadores econômicos e financeiros em sistemas típicos de produção de maçã no Brasil.** CIRCULAR TÉCNICA. Bento Gonçalves, RS, jul., 2018.
- LOCKHART, S. R. et al. ***Lodderomyces elongisporus* Masquerading as *Candida parapsilosis* as a Cause of Bloodstream Infections.** Journal Of Clinical Microbiology, [s.l.], v. 46, n. 1, p.374-376, out. 2007. American Society for Microbiology.
- LONGO M. A.; SANROMÁN, M. A. **Production of Food Aroma Compounds,** Food Technol. Biotechnol. v. 44 n.3, p. 335–353, 2006.
- MINGORANCE-CAZORLA et al. **Contribution of different natural yeasts to the aroma of two alcoholic beverages.** World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 19, n. 3, p. 297, 2003.
- MONTET, D.; RAY, R. C. **Fermented Foods, Part I: Biochemistry and Biotechnology.** CRC Press, abr. 2016. 413 p.
- OMELIANSKI, V. L. **Aroma-Producing Microorganisms.** Journal of Bacteriology. 8(4), p. 393-419, 1923.
- PIETROWSKI, G. A. M.; BITTENCOURT, J. V. M.; BRANDAO, L. R.; ROSA, C. A.; ALBERTI, A.; NOGUEIRA, A. **Identification and selection of non-*Saccharomyces* strains isolate from brazilian apple must.** Ciência Rural, [s.l.], v. 48, n. 5, p.1-4, 21 maio 2018.

RAVASIO, D. et al. **Adding Flavor to Beverages with Non-Conventional Yeasts. Fermentation.** v. 4, p. 1-16, 2018.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. **Molecular Biology and Evolution** v. 30 p. 2725-2729, 2013.

TEIXEIRA, L. V. **Análise Sensorial Na Indústria De Alimentos.** Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes” v.64, n. 366, p. 12-21, 2009.

USDA. United **States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service.** PS&D. Production, supply and distribution. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/advQuery>>. Acesso em: 14 abr. 2019.

VICENTE, V. A.; ATTILI-ANGELIS, D.; PIE, M. R. et al. **Environmental isolation of black yeast-like fungi involved in human infection.** Stud Mycol. v. 61, p. 137–144, 2008.

XIABO, Z.; JIEWEN, Z. **Comparative analyses of apple aroma by a tin-oxide gas sensor array device and GC/MS.** Food Chemistry, v. 107, p. 120-128, 2008.

ZORZAL, P. B. **Invenções Biotecnológicas No Brasil: Proteção De Sequências Biológicas Por Reivindicações De Gênero Em Patentes.** 281 f. Tese (Doutorado). Programa De Pós-Graduação Em Biotecnologia. Rede Nordeste De Biotecnologia Renorbio. Vitória, 2017.

## **SOBRE O ORGANIZADOR**

**BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO** Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso (2005), com especialização na modalidade médica em Análises Clínicas e Microbiologia. Em 2006 se especializou em Educação no Instituto Araguaia de Pós graduação Pesquisa e Extensão. Obteve seu Mestrado em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto de Ciências Biológicas (2009) e o Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (2013) da Universidade Federal de Goiás. Pós-Doutorado em Genética Molecular com concentração em Proteômica e Bioinformática. Também possui seu segundo Pós doutoramento pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Estadual de Goiás (2015), trabalhando com Análise Global da Genômica Funcional e aperfeiçoamento no Institute of Transfusion Medicine at the Hospital Universitätsklinikum Essen, Germany. Palestrante internacional nas áreas de inovações em saúde com experiência nas áreas de Microbiologia, Micologia Médica, Biotecnologia aplicada a Genômica, Engenharia Genética e Proteômica, Bioinformática Funcional, Biologia Molecular, Genética de microrganismos. É Sócio fundador da “Sociedade Brasileira de Ciências aplicadas à Saúde” (SBCSaúde) onde exerce o cargo de Diretor Executivo, e idealizador do projeto “Congresso Nacional Multidisciplinar da Saúde” (CoNMSaúde) realizado anualmente no centro-oeste do país. Atua como Pesquisador consultor da Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Goiás - FAPEG. Coordenador do curso de Especialização em Medicina Genômica e do curso de Biotecnologia e Inovações em Saúde no Instituto Nacional de Cursos. Como pesquisador, ligado ao Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (IPTSP-UFG), o autor tem se dedicado à medicina tropical desenvolvendo estudos na área da micologia médica com publicações relevantes em periódicos nacionais e internacionais.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Ácido fólico 148  
Análise de diversidade genética de Nei 205  
Análise Multivariada 93

### B

Bahia 24, 53, 54, 57, 60, 63, 64, 151, 188  
Banco de DNA 5, 54, 57, 63  
Bioaromas 38, 39  
Bioinformática 118, 244

### C

Camapu 47, 48, 59  
Capsicum sp. 93, 94, 95, 103  
Capsicum spp. 7, 8, 76, 77, 78, 81, 82, 93, 94, 95, 96, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104  
Caracterização morfoagronômica 47  
Coeficientes de endogamia 5, 205  
COI 140, 141, 144, 147, 155, 156, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165  
Componentes principais 201  
Conservação de RGV 167  
Crassostrea 9, 155, 156, 158, 160, 162, 163, 164, 165, 166  
Cultivares 5, 7, 86, 114, 196  
Cultivo urbano 167

### D

Dissimilaridade 104, 116  
Divergência 23, 104, 113, 115, 143, 162, 192, 193  
DNA Mitoconrial 155  
Dof (DNA-binding with One Zinc Finger) 118

### E

Epidemiologia 148  
Espécies Negligenciadas e Subutilizadas 54  
Espinha bífida 148, 149, 151  
Estabilidade genética 10  
Estudos genéticos 66  
Expressão de genes 118

## F

Fenofase reprodutiva 130  
Flamboyant 174, 175  
Fluxo gênico 205, 214, 216  
Fragmentação florestal 205

## G

Germinação in vitro 174, 177, 178  
Germoplasma 5, 1, 3, 11, 13, 15, 16, 61, 62, 64, 93, 106, 108, 113, 114, 116, 117, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 192, 242  
Gower 106, 107, 110, 117

## H

Herbário 53, 54, 57, 61, 132  
Hortaliças 61, 62, 64, 65, 167, 172

## I

Identificação Molecular 38, 40

## L

Leveduras não-Saccharomyces 38

## M

Malus spp. 107, 115  
Maranhão 9, 75, 76, 78, 80, 82, 93, 94, 95, 103, 131, 138, 140, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 155, 156, 157, 158, 160, 162, 164, 165, 167, 168, 169, 170  
Melhoramento genético 76  
Metabólitos secundários 66  
Microrganismos Patogênicos 25

## P

PANC 53, 54, 55, 56, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 64  
Plantas medicinais 51, 182  
Precipitação 71, 72

## Q

Qualidade de sementes 5

## R

Receptividade estigmática 174

*Ricinus communis* L. 84, 85, 92, 126, 194, 195, 233, 234, 242, 243

Rubiaceae 13, 14, 16, 23, 59, 61

## S

Sanidade Animal 25

Sapo-cururu 138

SDS 66, 67, 68, 69, 72

Segurança Alimentar 25, 173

Seleção direta 76

Simulações em Easypop 205

Sistemática 138

## T

*Triticum aestivum* 1, 2, 11

Triton X-100 66, 67, 68, 69, 72

## U

Uva 115, 185, 186

## V

Variabilidade 47, 74, 104, 114, 192

Viabilidade Polínica 174

Videira 187, 188, 189

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-486-3



9 788572 474863