

C. Ciências Biológicas - 10. Microbiologia - 2. Microbiologia Aplicada

OBTENÇÃO DE CÉLULAS HAPLÓIDES DE *Saccharomyces cerevisiae*

MARIANA LINO DE SOUZA¹

SIMONE CRISTINA MARQUES²

EUSTÁQUIO SOUZA DIAS³

1. Bolsista/CNPq, graduanda em Ciências Biológicas, DBI/UFLA

2. Co-orientadora, bolsista Pós-Doutorado PNPd/CAPES Microbiologia Agrícola, UFLA

3. Orientador, Professor Adjunto, DBI/UFLA

RESUMO:

O melhoramento genético clássico é uma estratégia para o cruzamento entre linhagens com características desejáveis que apresentam reprodução sexuada, possuindo a vantagem de se obter novas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* sem o estigma de um microrganismo geneticamente modificado. Características desejáveis de uma linhagem podem ser combinadas com as de outra através do cruzamento com a progênie haplóide. Para tanto, as linhagens diplóides são induzidas a entrar na meiose e sofrer esporulação em meio pobre em nitrogênio e açúcar, contendo acetato como fonte de carbono. Baseado nisso, objetivou-se obter uma progênie haplóide da estirpe GF 33, pertencente ao Laboratório de Fisiologia e Genética de Microrganismos do DBI/UFLA, visando futuros experimentos de cruzamento. A estirpe GF33 foi cultivada em placas contendo meio ágar acetato (acetato de potássio 1%, extrato de levedura 0,25% e Agar 2%), incubadas a 30°C, por dez dias. Após este período, as células crescidas foram ressuspensas em 100 µL de enzima "lysing enzymes" (20 mg/mL) e incubadas em banho-maria a 37°C por 1 hora. A suspensão foi centrifugada e ressuspensa em 100 µL de água destilada estéril. Essa suspensão foi espalhada com auxílio de alça de Drigalski na superfície de uma placa contendo YEPD sólido, para posterior isolamento em micromanipulador. Após a separação dos haplóides, as placas foram incubadas a 30°C/48 horas, permitindo a germinação e formação de colônia no meio de cultura. As colônias crescidas serão cruzadas com duas linhagens testadoras, MATa e MATα de tipo de reação sexual conhecidas para confirmar a haploidia e determinar a reação sexual da progênie haplóide. A obtenção do produto haplóide foi observada pela metodologia testada.

Instituição de Fomento: FAPEMIG/ CAPES/ CNPq

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*, haplóides, micromanipulador.